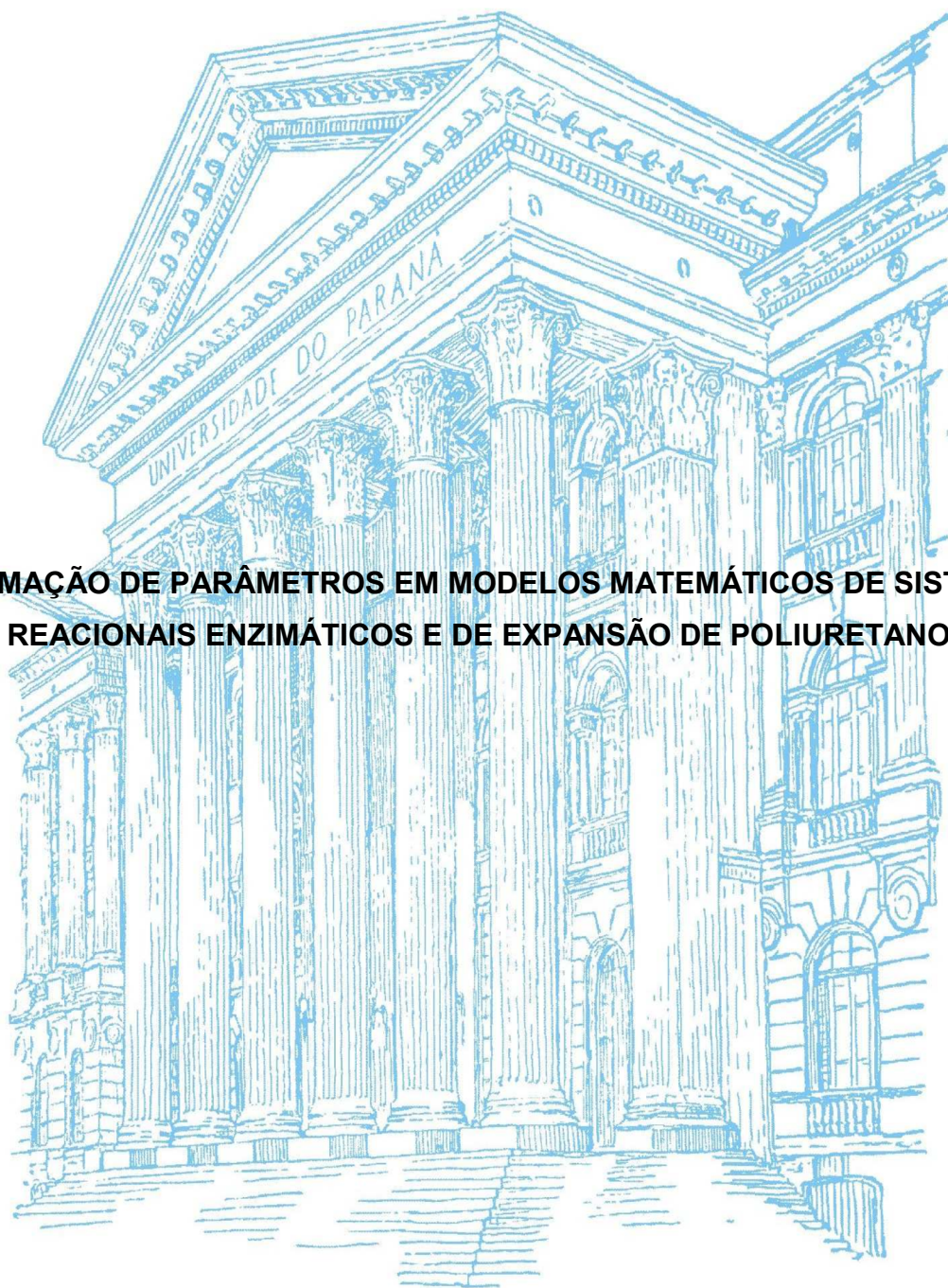


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ANELIZE SENISKI SILVA

**ESTIMAÇÃO DE PARÂMETROS EM MODELOS MATEMÁTICOS DE SISTEMAS
REACIONAIS ENZIMÁTICOS E DE EXPANSÃO DE POLIURETANOS**



CURITIBA

2017

ANELIZE SENISKI SILVA

**ESTIMAÇÃO DE PARÂMETROS EM MODELOS MATEMÁTICOS DE SISTEMAS
REACIONAIS ENZIMÁTICOS E DE EXPANSÃO DE POLIURETANOS**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química, Área de Concentração em Modelagem, Simulação, Otimização e Controle de Processos. Departamento de Engenharia Química, setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Kaminski Lenzi
Coorientador: Prof^a. Dr^a. Elaine Vosniak Takeshita
Prof. Dr. Pedro Henrique Hermes de Araújo

CURITIBA

2017

S586

Silva, Anelize Seniski

Estimação de parâmetros em modelos matemáticos de sistemas reacionais enzimáticos e de expansão de poliuretanos / Anelize Seniski Silva.
– Curitiba, 2017.

73 f. : il. color. ; 30 cm.

Dissertação - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, 2017.

Orientador: Marcelo Kaminski Lenzi – Co-orientador: Elaine Vosniak Takeshita; Pedro Henrique Hermes de Araújo.

Bibliografia: p. 71-73.

1. Modelos Matemáticos. 2. Catálise enzimática. 3. Poliuretano.
I. Universidade Federal do Paraná. II. Lenzi, Marcelo Kaminski. III. Takeshita, Elaine Vosniak. IV. Araújo, Pedro Henrique Hermes de. V. Título.

CDD: 511.8


TERMO DE APROVAÇÃO


Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ENGENHARIA QUÍMICA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **ANELIZE SENISKI SILVA** intitulada: **Estimação de parâmetros em modelos matemáticos de sistemas reacionais enzimáticos e de expansão de poliuretanos**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua

Aprovação.

CURITIBA, 24 de Fevereiro de 2017.


MARCELO KAMINSKI LENZI
Presidente da Banca Examinadora (UFPR)


RAFAEL BRUNO VIEIRA
Avaliador Interno (UFPR)


EMERSON MARTIM
Avaliador Externo (PUCPR)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter colocado em meu caminho desafios possíveis de serem finalizados com sucesso.

Aos meus pais, Irley e Adilza pelo incentivo de sempre continuar estudando.

Em especial ao meu orientador e professor. Dr. Marcelo Kaminski Lenzi, pela paciência e orientação e por tornar possível a realização desse trabalho.

Aos familiares e amigos que de alguma forma me deram suporte durante a realização desse trabalho. Em especial a Karina e Giana.

Ao Kevin pela compreensão e paciência nos momentos de estudos e frustrações. E que sempre esteve ao meu lado nos momentos fáceis e difíceis.

A Professora Elaine pelo auxílio durante a dissertação.

Ao PPGEQ e a todos os professores do departamento que de alguma forma me ajudaram durante esse período.

Ao Professor Pedro e a Alexsandra Valério da UFSC que me auxiliaram durante o intercâmbio em Florianópolis. Ao PROCAD que financiou a minha estadia por lá.

RESUMO

Modelos matemáticos representam uma ferramenta importante para estudos de processos. Esses modelos são normalmente expressos por equações algébricas. No entanto em alguns cenários devem ser utilizadas equações diferenciais, especialmente quando descrevem condições não estáveis. Durante a formulação do modelo, parâmetros desconhecidos são comumente utilizados para descrever fenômenos experimentais. Esses parâmetros são geralmente utilizados para ajustar o modelo, os procedimentos de estimação de parâmetros geralmente consistem em minimizar uma função objetivo utilizando um procedimento numérico. Nesse trabalho foram propostos modelos matemáticos para a catálise enzimática da esterificação e transesterificação da produção do geranil cinamato, estudou-se também os modelos clássico random bi bi, ordered bi bi e ping pong bi bi, que descrevem, através de equações, a cinética da reação, assim como seu mecanismo. Desenvolveu-se um modelo matemático com um sistema de equações diferenciais que descreve a cinética das reações estudadas. Dessa forma, a validação do modelo foi proposta a partir de ferramentas de otimização para encontrar os parâmetros do sistema de equações diferenciais e compará-los com os dados experimentais. Para a validação do modelo, foram utilizados dois métodos apresentados por Schwaab & Pinto (2007) e Englezos & Kalogerakis (2000). Os modelos propostos tanto para a esterificação como para a transesterificação foram considerados satisfatório, assim como os parâmetros encontrados. Neste trabalho foi proposto também, o estudo do crescimento do poliuretano e desenvolvido um modelo de equação algébrica que descreveu os dados experimentais. Utilizando o método de Schwaab & Pinto (2007) foi possível prever a região de confiança dos parâmetros encontrados para os determinados dados experimentais.

Palavras chave: Modelos Matemáticos. Estimação de parâmetros.
Catálise enzimática. Poliuretano.

ABSTRACT

Mathematical models represent an important tool for process studies. These models are usually expressed by algebraic equations. However, in some scenarios differential equations must be used, especially when used to describe non steady state conditions. During the model formulation, unknown parameters are commonly used to describe experimental phenomena. These parameters are usually used to tune the model in order to adequately describe (fit) one or more sets of experimental data behavior. The parameters estimation procedure usually consists of minimizing an objective function using a numerical procedure. This study presents mathematical models for the enzymatic catalysis for the esterification and transesterification for the production of the geranyl cinnamate, there is also a study about the classic models random bi bi, ordered bi bi and ping pong bi bi, which describe through equations, a reaction kinetics, as well as its mechanism. A mathematical model was developed with a system of differential equations that describes the kinetics of the studied reactions. Thus the validation of the model was proposed from optimization tools to calculate the parameters of the system of differential equations and compare them with the experimental data. Two methods were used by Schwaab & Pinto (2007) and Englezos & Kalogerakis (2000) for a validation of the model. The proposed models for both esterification and transesterification were considered satisfactory, as were the parameters found. In this paper was also proposed the study of polyurethane growth and developed an algebraic equation model that described the experimental data. Using the method of Schwaab & Pinto (2007) was possible to predict the region of confidence of the parameters found for experimental data.

Keyword: Mathematical Models. Parameters Estimation. Enzymatic Catalysis. Polyurethane.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| FIGURA 1 – MOLÉCULA GERAL DE UM ÉSTER..... | 15 |
| FIGURA 2 – MOLÉCULA GERAL DE UM ÉSTER CINÂMICO..... | 16 |
| FIGURA 3 – ESQUEMA REPRESENTATIVO DE UMA REAÇÃO CATALISADA POR ENZIMA..... | 16 |
| FIGURA 4 – ESQUEMA DO MODELO MECANÍSTICO DE CLELAND..... | 17 |
| FIGURA 5 – ESQUEMA DE UMA REAÇÃO SIMPLES CATALISADA POR ENZIMA | 17 |
| FIGURA 6 – MODELO MECANÍSTICO DE MICHAELIS-MENTEN..... | 18 |
| FIGURA 7 – MODELO MECANÍSTICO DE MICHAELIS-MENTEN, COM K DO CATALISADOR..... | 21 |
| FIGURA 8 – MECANISMO DO MODELO RANDOM BI BI | 23 |
| FIGURA 9 – MECANISMO DO MODELO ORDERED BI BI | 23 |
| FIGURA 10 – MECANISMO DO MODELO PING PONG BI BI..... | 24 |
| FIGURA 11 – REAÇÃO DE ESTERIFICAÇÃO ENTRE O ÁCIDO ESTEÁRICO E SOLKETAL CATALISADA POR LIPASE CAL B IMOBILIZADA EM MICROEMULSÕES AOT | 24 |
| FIGURA 12 – ESQUEMA DO MECANISMO ORDERED BI-BI..... | 25 |
| FIGURA 13 – ESTEQUEOMETRIA DO MODELO PARA O PROCESSO DE TRANSESTERIFICAÇÃO. | 27 |
| FIGURA 14 – REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO..... | 29 |
| FIGURA 15 – REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO PARA PRODUÇÃO DO GERANIL CINAMATO..... | 31 |
| FIGURA 16 – MODELO MECANÍSTICO PROPOSTO PARA A REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO DO GERANIL CINAMATO | 32 |
| FIGURA 17 – REAÇÃO DE ESTERIFICAÇÃO DO GERANIL CINAMATO | 41 |
| FIGURA 18 – MODELO MECANÍSTICO DA REAÇÃO DE ESTERIFICAÇÃO..... | 42 |
| FIGURA 19 – MODELO MECANÍSTICO DA REAÇÃO DE ESTERIFICAÇÃO..... | 42 |
| FIGURA 20 – REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO DO GERANIL CINAMATO.. | 43 |
| FIGURA 21 – MODELO MECANÍSTICO DA REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO. | 43 |
| FIGURA 22 – REAÇÃO DA SÍNTESE DO POLIURETANO..... | 49 |
| FIGURA 23 – ETAPAS DA FORMAÇÃO DA ESPUMA CONVENCIONAL | 49 |

| | |
|---|----|
| FIGURA 24 – CONJUNTO DE DADOS DO NÍVEL DO POLIUTERANO..... | 50 |
| FIGURA 25 – DADOS EXPERIMENTAIS DA ESTERIFICAÇÃO VERSUS PREDIÇÃO DO MODELO E O INTERVALO DE CONFIANÇA DOS PARÂMETROS | 62 |
| FIGURA 26 – DADOS EXPERIMENTAIS DA TRANSESTERIFICAÇÃO VERSUS PREDIÇÃO DO MODELO E O INTERVALO DE CONFIANÇA DOS PARÂMETROS | 64 |
| FIGURA 27 – DADOS EXPERIMENTAIS DO NÍVEL DO PU VERSUS PREDIÇÃO DO MODELO E O INTERVALO DE CONFIANÇA DOS PARÂMETROS..... | 65 |
| FIGURA 28 – VALORES EXPERIMENTAIS VS VALORES PREVISTOS PELO MODELO..... | 66 |
| FIGURA 29 – DADOS EXPERIMENTAIS DO NÍVEL DO PU VERSUS PREDIÇÃO DO MODELO E O INTERVALO DE CONFIANÇA DOS PARÂMETROS..... | 67 |
| FIGURA 30 – VALORES EXPERIMENTAIS VS VALORES PREVISTOS PELO MODELO..... | 68 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| QUADRO 1 – ETAPAS UTILIZADAS PARA O ALGORITMO GENÉTICO | 44 |
| TABELA 1 – MASSA INICIAL DE CADA REGENTE PARA OS CONJUNTOS DE DADOS | 51 |
| TABELA 2 – DADOS EXPERIMENTAIS PARA A ESTERIFICAÇÃO | 60 |
| TABELA 3 – RESULTADOS ENCONTRADOS PARA O PRIMEIRO MÉTODO PARA A ESTERIFICAÇÃO | 61 |
| TABELA 4 – RESULTADOS ENCONTRADOS PARA O SEGUNDO MÉTODO PARA A ESTERIFICAÇÃO | 61 |
| TABELA 5 – DADOS EXPERIMENTAIS PARA A TRANSESTERIFICAÇÃO | 63 |
| TABELA 6 – RESULTADOS ENCONTRADOS PARA O PRIMEIRO MÉTODO PARA A TRANSESTERIFICAÇÃO | 63 |
| TABELA 7 – RESULTADOS ENCONTRADOS PARA O SEGUNDO MÉTODO PARA A TRANSESTERIFICAÇÃO | 64 |
| TABELA 8 – RESULTADOS ENCONTRADOS PARA O CONJUNTO DE DADOS H1 | 66 |
| TABELA 9 – VALORES DOS LIMITES SUPERIOR E INFERIOR DOS DADOS EXPERIMENTAIS H1..... | 67 |
| TABELA 10 – RESULTADOS ENCONTRADOS PARA O CONJUNTO DE DADOS H2 | 68 |
| TABELA 11 – VALORES DOS LIMITES SUPERIOR E INFERIOR DOS DADOS EXPERIMENTAIS H2..... | 69 |

LISTA DE SIMBOLOS

[A] - Concentração do substrato A
[A]_{eq} - Concentração do substrato A no equilíbrio
[B] - Concentração do substrato B
[B]_{eq} - Concentração do substrato B no equilíbrio
[C]_{eq} - Concentração do substrato C no equilíbrio
Ac - Ácido Cinâmico
Al - Álcool (Etanol)
B_k - Aproximação da matriz hessiana
C - Matriz de observação
Cov(k*) - Matriz de covariância paramétrica
E - Enzima
E{ } - Valor esperado
ES - Complexo Enzima/Substrato
Et - Etil Cinamato
Fobj - Função Objetivo
G(t_i) - Matriz de sensibilidade
G - Geraniol
Gc - Geranil Cinamato
Gy - Matriz derivada de Fobj em relação a θ e y^e
H - Vetor função
H α - Matriz Hessiana de Fobj em relação a θ
k_{cat} - constante de velocidade do catalizador
K_m - Constante de Michaelis-Mentem
k_n - Constante de velocidade
K_s - Constante de equilíbrio relativa a dissociação
NE - Número de experimentos
NP - Número de parâmetros
P - Produto
S - Substrato
V₀ - velocidade inicial
V_{max} - velocidade máxima
Vy - Matriz de covariância paramétrica

W - água

y^e - Valor da variável experimental

y^m - Valor da variável calculada pelo modelo

α - Parâmetro

ε - Incerteza experimental

θ - Valor dos parâmetros a serem estimados

σ - Erro padrão

$\phi(z)$ - Jacobiana

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1 INTRODUÇÃO | 13 |
| 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 15 |
| 2.1 ÉSTERES CINÂMICOS | 15 |
| 2.2 CINÉTICA ENZIMÁTICA | 16 |
| 2.2.1 Velocidade de reação | 17 |
| 2.2.2 Modelo Uni Uni | 18 |
| 2.2.3 Cinética enzimática para mais de um substrato | 22 |
| 2.2.3.1 Mecanismo Random bi bi | 22 |
| 2.2.3.2 Mecanismo Ordered bi bi | 23 |
| 2.2.3.3 Mecanismo Ping Pong bi bi | 24 |
| 2.3 POLIURETANO | 33 |
| 2.3.1 Policondensação | 34 |
| 2.4 PARÂMETROS | 34 |
| 2.4.1 Modelos Matemáticos | 35 |
| 2.4.2 Estimação de Parâmetros | 36 |
| 2.5 MÉTODOS NUMÉRICOS | 37 |
| 2.6 ALGORITMO GENÉTICO | 37 |
| 2.7 CONSIDERAÇÕES | 39 |
| 3 MÉTODOS | 41 |
| 3.1 MECANISMOS E CINÉTICAS DA REAÇÕES DA PRODUÇÃO DO GERANIL CINAMATO | 41 |
| 3.2 OBTENÇÃO DOS PARÂMETROS | 44 |
| 3.3 MÉTODO NUMÉRICO PARA RESOLUÇÃO DO SISTEMA DE EQUAÇÕES | 46 |
| 3.3.1 Quase-Newton | 46 |
| 3.4 OBTENÇÃO DO MODELO PARA O POLIURETANO | 48 |
| 3.5 REGIÃO DE CONFIANÇA PARAMÉTRICA | 51 |
| 3.6 ESTIMAÇÃO DE PARÂMETROS | 52 |
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 60 |
| 4.1 MODELO DA ESTERIFICAÇÃO E TRANSESTERIFICAÇÃO | 60 |
| 4.2 MODELOS DO NÍVEL DO POLIURETANO | 65 |

| | |
|--------------------------|-----------|
| 5 CONCLUSÃO | 70 |
| REFERÊNCIAS..... | 71 |

1 INTRODUÇÃO

Modelos matemáticos representam uma importante ferramenta para os estudos de processos. Esses modelos são geralmente expressos por equações algébricas, entretanto em alguns cenários as equações diferenciais devem ser utilizadas, especialmente quando se descreve uma situação com condições não estacionária.

Durante a formulação do modelo parâmetros desconhecidos são comumente utilizados para descrever os dados experimentais. Esses parâmetros são usualmente utilizados para sintonizar o modelo afim de descrever adequadamente um ou mais conjuntos de dados experimentais.

A formulação da estimação desses parâmetros é de igual importância para a atual solução do problema. Obter valores de parâmetros adequados requer confiáveis técnicas de estimação de parâmetros. Frequentemente são utilizadas técnicas estatísticas para obter os parâmetros de um modelo empregando mínimos quadrados de regressão linear ou não linear.

Em alguns casos, além das equações algébricas ou diferenciais, o modelo matemático que descreve um sistema é acompanhado por um conjunto de restrições. Estas restrições devem ser satisfeitas quando os parâmetros convergem para seus melhores valores. Elas podem ser aplicadas sobre os parâmetros ou sobre as variáveis de resposta.

É importante realizar alguns cálculos para estabelecer estimativas do erro padrão nos parâmetros. Esta etapa é imprescindível, pois fornece uma medida qualitativa da quantidade do ajuste global e informa quão confiável a estimação dos parâmetros é.

Na engenharia bioquímica a estimação de parâmetros pode ser utilizada para predições do comportamento de catálises enzimáticas e sistemas bioquímicos. Essa é uma área muito explorada na atualidade, principalmente nas indústrias farmacêutica e alimentícia. A catálise enzimática é um dos mecanismos utilizados por essas indústrias, para viabilizar a obtenção de produtos de reações de difícil conversão, auxiliando nos processos de esterificação e transesterificação de reações químicas.

A obtenção de ésteres por esse meio é muito comum, visto que as operações, normalmente utilizadas, encarecem o custo do produto, pois o tempo, temperatura e pressão utilizados são muito elevados. Os ésteres cinâmicos têm propriedades

procuradas pelas indústrias, porque possuem propriedades únicas: são antioxidantes, e possuem sabor e fragrância.

A cinética de uma catálise enzimática pode seguir alguns modelos propostos existentes na literatura, como o random bi bi, ordered bi bi e ping pong bi bi. Esses modelos interpretam a reação catalisada por enzima, em que dois substratos reagem produzindo dois produtos.

Observa-se, porém, uma forma diferente de descrever cineticamente essas reações. A partir dos modelos propostos na literatura, é possível obter um sistema de equações diferenciais para as reações de esterificação e transesterificação.

Dessa forma, o trabalho tem como finalidade realizar o estudo da esterificação e transesterificação para a formação do geranil cinamato, propondo um modelo mecanístico e um modelo matemático que descreva a reação por meio de um sistema de equações diferenciais, a partir de ferramentas de otimização, obtendo assim os parâmetros que se encontram no sistema de equações diferenciais que descrevem a cinética das reações. Com os valores ótimos dos parâmetros obtidos é possível encontrar o erro e a região de confiança do modelo em relação aos dados experimentais.

As poliuretanas apresentam diversas aplicações comerciais, tais como o uso sob a forma de revestimentos e isolantes. Em geral são formadas pela reação de polióis e isocianatos. A expansão do meio reacional durante o processo de síntese representa um importante aspecto operacional para o projeto da resina, consequentemente de suas propriedades finais de uso. Dessa forma esse trabalho utilizou-se de dados experimentais da literatura da expansão do poliuretano e desenvolveu-se modelos matemáticos algébricos que descrevem esses dados. Encontrou-se os valores dos parâmetros e determinou-se a região de confiança desses parâmetros para os dados experimentais representados.

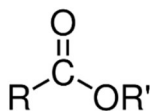
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A modelagem matemática é uma ferramenta muito importante para as engenharias, em particular a bioquímica. Vários tipos de modelos foram desenvolvidos para fins de análise do sistema e otimização de reações por catálise enzimática. Com o aumento do interesse da indústria farmacêutica e alimentícia na utilização de sistemas biológicos, as modelagens têm como objetivo facilitar uma solução e criar uma previsão do sistema.

2.1 ÉSTERES CINÂMICOS

Em geral, os ésteres são compostos polares, e como não possuem um hidrogênio ligado a um oxigênio, não há uma ligação forte entre as moléculas. Os ésteres possuem o grupo acilato (COO), ligado a dois radicais orgânicos ou a um radical orgânico e um hidrogênio.

FIGURA 1 – MOLÉCULA GERAL DE UM ÉSTER

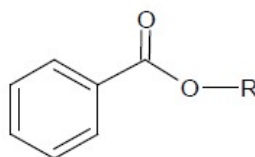


FONTE: SOLOMONS (2002).

Os ésteres possuem ponto de ebulição menor que os ácidos e os álcoois com peso molecular semelhantes. Eles também possuem odores agradáveis, diferente dos ácidos de baixo peso molecular, alguns apresentam aroma de frutas e são utilizados na fabricação de essências (SOLOMONS, 2002).

Os ésteres cinâmicos têm propriedades únicas, antioxidante, sabor e fragrância, fazendo com que o produto seja utilizado na indústria de alimentos e farmacêutica (SHINDE et al., 2014). A forma mais comum de se obter esses ésteres é por meio da esterificação ou transesterificação, em que as condições de tempo, temperatura e pressão tornam o custo desses processos muito elevado. Como meio de viabilizar a reação e torná-la mais vantajosa para fins industriais, é possível realizar uma catálise enzimática.

FIGURA 2 – MOLÉCULA GERAL DE UM ÉSTER CINÂMICO



FONTE: O autor (2017).

2.2 CINÉTICA ENZIMÁTICA

Segundo Fogler (2009), uma das principais ferramentas para a análise de uma reação química é o seu estudo cinético. Na cinética química estuda-se as velocidades e o mecanismo de reação.

Mahan e Myers (1995) descrevem que as reações catalisadas por enzimas são caracterizadas pela formação de associação ou complexos com as moléculas, ou seja, o substrato. O complexo enzima substrato pode se dissociar formando os reagentes e a enzima livre, ou os produtos e a enzima livre.

Em um modelo cinético catalisado por uma enzima, é muito comum encontrar formas de representação como essa:

FIGURA 3 – ESQUEMA REPRESENTATIVO DE UMA REAÇÃO CATALISADA POR ENZIMA

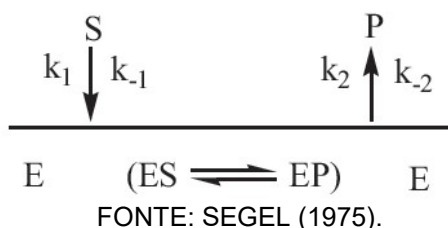


FONTE: SEGEL (1975).

Na figura 3, E é a representação da enzima, S do substrato, ES do complexo enzima/substrato, P o produto desejado, k_1 , k_2 , k_{-1} , k_{-2} são as constantes de velocidade da reação. Quando a reação ocorre, o substrato se liga à enzima, formando um complexo (ES), esse complexo sofre uma transformação, pois ele não é estável, formando um produto e liberando a enzima com as mesmas propriedades e características do início da reação.

Cleland (1963) apresenta o modelo mecanístico na forma (SEGEL, 1975):

FIGURA 4 – ESQUEMA DO MODELO MECANÍSTICO DE CLELAND



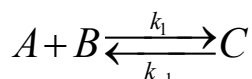
Na linha horizontal, está representada a cinética da enzima; na seta para baixo, está representado o substrato que “entra” no sistema; e na seta para cima, está representado o produto que “sai” do sistema.

Os ligantes, substratos, produtos, inibidores e ativadores são capazes de interagir com a enzima. Assim, elas podem ser encontradas na forma de enzima estável: é a enzima que não pode sofrer reação de dissociação liberando ligante. A forma não combinada de enzima, ou enzima livre, nos exemplos anteriores é a forma E. Complexos transitórios: são as formas modificadas da enzima, em que ela está associada ao substrato, podendo participar de reações unimoleculares, liberando o produto final. Nos exemplos anteriores é a forma ES e EP. Complexos centrais: são formas de enzimas em que todos os sítios de atuação dos substratos e produto estão ocupados. São complexos transitórios que apenas podem participar de reações unimoleculares. Nos exemplos anteriores é a forma EP.

2.2.1 Velocidade de reação

Segundo Pinto e Menezes (2009), pelo modelo mecanístico é possível desenvolver o modelo matemático que pode ser aplicado em uma reação simples ou mais complexa.

FIGURA 5 – ESQUEMA DE UMA REAÇÃO SIMPLES CATALISADA POR ENZIMA



FONTE: PINTO; MENEZES (2009).

A reação que segue no sentido do produto (C) é chamada de reação direta, já a reação que segue para a formação dos reagentes (A e B) é dita reação inversa.

Segundo Mahan e Myers (1995), a lei de ação das massas foi proposta por Guldberg e Waage em trabalhos publicados entre 1864 e 1867. Essa lei é baseada

na expressão da constante de equilíbrio e foi obtida por meio de medidas experimentais e em ideias teóricas sobre as velocidades das reações. Portanto, seguindo a lei de ação das massas a velocidade de reação para a figura 5 pode ser descrita como:

$$v_c = \frac{d[C]}{dt} = k_1 \cdot [A] \cdot [B] - k_{-1} \cdot [C] \quad (\text{eq. 1.1})$$

A equação 1.1 descreve a velocidade de formação (v_c) do produto (C), no qual está ocorrendo uma reação reversível. A equação elementar considera um sistema isotérmico e com volume constante. As constantes de velocidade estão representadas por k_1 , em que a reação segue a direção dos produtos, e k_{-1} , em que a reação ocorre inversamente, ou seja, para o lado dos reagentes.

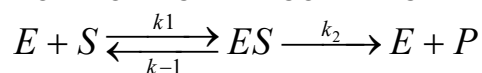
Uma reação reversível pode atingir o equilíbrio químico quando não há mais formação de reagentes em produtos e nem produtos em reagentes (MAHAN; MYERS, 1995). Na equação 1.2 observa-se a constante k_{eq} , que é a constante de equilíbrio da reação. Para obter essa constante, é necessário considerar as concentrações dos reagentes e produtos quando a reação atinge o equilíbrio. Para se chegar na equação 1.2, é necessário igualar a equação 1.1 a zero, ou seja, admitir que não haverá mudança das concentrações com o tempo. Assim, a equação 1.1 no equilíbrio pode ser reescrita como mostra a equação 1.2.

$$k_1 \cdot [A]_{eq} \cdot [B]_{eq} = k_{-1} \cdot [C]_{eq} \therefore \frac{[A]_{eq} \cdot [B]_{eq}}{[C]_{eq}} = \frac{k_{-1}}{k_1} = k_{eq} \quad (\text{eq. 1.2})$$

2.2.2 Modelo Uni Uni

O modelo mecanístico Uni Uni de Michaelis-Menten é representado na figura abaixo.

FIGURA 6 – MODELO MECANÍSTICO DE MICHAELIS-MENTEN



FONTE: SEGEL (1975).

Segundo Segel (1975), o modelo Uni Uni de Michaelis-Menten é o modelo mais simples e tradicional que descreve a cinética enzimática. Na figura 5 o substrato (S) se liga a enzima (E), formando um complexo (ES), essa etapa da reação é reversível, surgindo assim duas constantes de velocidade: k_1 e k_{-1} . O complexo ES se transforma em produto (P), liberando a enzima (E) e a retornando ao estado em que estava no início da reação. Essa etapa da reação é irreversível, assim constará apenas uma constante de reação (k_2).

As equações de velocidade para a reação da figura 6 podem ser escritas nas equações a seguir.

$$\frac{d[E]}{dt} = (k_{-1} + k_2) \cdot [ES] - k_1 \cdot [E] \cdot [S] \quad (\text{eq. 1.3})$$

$$\frac{d[ES]}{dt} = - (k_{-1} + k_2) \cdot [ES] + k_1 \cdot [E] \cdot [S] \quad (\text{eq. 1.4})$$

$$\frac{d[S]}{dt} = -k_1 \cdot [E] \cdot [S] + k_{-1} \cdot [ES] \quad (\text{eq. 1.5})$$

$$\frac{d[P]}{dt} = k_2 \cdot [ES] \quad (\text{eq. 1.6})$$

Se for realizado um balanço de massa da reação, considerando $[E]_0$, concentração da enzima no início da reação, $[E]$ concentração da enzima no final da reação e $[ES]$ concentração do complexo enzima/substrato, obtém-se a equação 1.7. Seguindo o balanço de massa, agora considerando a concentração inicial do substrato $[S]_0$ e igualando com as concentrações do substrato $[S]$ no fim da reação, produto $[P]$ obtido e o complexo $[ES]$, obtém-se a equação 1.8.

$$[E]_0 = [E] + [ES] \quad (\text{eq.1.7})$$

$$[S]_0 = [S] + [P] + [ES] \quad (\text{eq.1.8})$$

Para reduzir esses modelos matemáticos em apenas uma equação é necessário fazer algumas simplificações. Duas simplificações são geralmente utilizadas. Considerando-se a reação em sistema estacionário ou em um regime de rápido equilíbrio, em ambas as simplificações se considera que o complexo transitório permanece com a concentração constante (PINTO; MENEZES, 2009).

Se forem feitas simplificações para o regime estacionário, admite-se que a concentração de [ES] permanecerá constante, assim as equações podem ser descritas como:

$$[E] = [E]_0 - [ES] \quad (\text{eq.1.9})$$

$$[S] = [S]_0 - [P] - [ES] \quad (\text{eq.1.10})$$

$$[ES] = \frac{k_1}{k_{-1} + k_2} \cdot [E] \cdot [S] = \frac{[E] \cdot [S]}{K_m} \quad (\text{eq.1.11})$$

$$\frac{d[P]}{dt} = k_2 \cdot [ES] \quad (\text{eq.1.12})$$

Com essas simplificações, surge uma nova constante, K_m na qual pode ser observada na equação 1.11. Essa constante é chamada constante de Michaelis, que está descrita novamente na equação 1.13.

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} \quad (\text{eq.1.13})$$

A partir dessas considerações e simplificações, é possível chegar na equação de Michaelis-Menten.

$$v_o = \frac{k_2 \cdot [E]_0 \cdot [S]}{K_m + [S]} = \frac{v_{\max} \cdot [S]}{K_m + [S]} \quad (\text{eq.1.14})$$

A equação é a representação da cinética para o modelo uni uni irreversível para os modelos em regime de estado estacionário. O volume é considerado constante e o sistema isotérmico. Na equação 1.14, observa-se o surgimento de uma nova variável (v_{\max}), a qual representa a velocidade máxima da reação. Geralmente as catálises enzimáticas são realizadas com baixas concentrações de enzimas, assim $[E]_0 \ll [S]_0$. Nessas condições, tanto [E] como [ES] podem ser consideradas desprezíveis comparadas a $[S]_0$. As velocidades determinadas experimentalmente normalmente são consideradas nas condições iniciais da reação, assim, a

concentração do produto [P] é muito pequena comparada à concentração de [S]₀ (PINTO; MENEZES, 2009).

Outra forma de escrever a equação de Michaelis-Menten surge nessas novas condições e está descrita na equação 1.15.

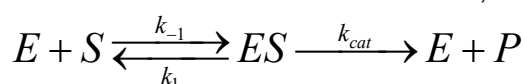
$$v_o = \frac{v_{\max} \cdot [S]_0}{K_m + [S]_0} \quad (\text{eq. 1.15})$$

Nas catálises enzimáticas é muito comum encontrar uma constante de dissociação, que é a afinidade da enzima em relação ao substrato, essa constante recebe o nome de constante de equilíbrio relativa à dissociação (K_s). Pode-se descrever a equação do K_s conforme a equação 1.16.

$$K_s = \frac{[E] \cdot [S]}{[ES]} = \frac{k_{-1}}{k_1} \quad (\text{eq. 1.16})$$

Considerando o modelo mecanístico de Michaelis-Menten da figura 5, obtém-se a reação da figura 7, na qual a constante de velocidade k_2 é considerada agora como sendo a constante de velocidade do catalisador, k_{cat} .

FIGURA 7 – MODELO MECANÍSTICO DE MICHAELIS-MENTEN, COM K DO CATALISADOR.



FONTE: SEGEL (1975).

Para obter a expressão da velocidade (1.17) com essas novas considerações, analisa-se a segunda etapa da reação, que é irreversível e que o complexo ES forma o produto P, liberando a enzima E. Essa etapa é considerada a etapa limitante da reação enzimática.

$$v = k_{cat} \cdot [ES] \quad (\text{eq. 1.17})$$

Quando se possui um único substrato em estado estacionário e não é considerando apenas as condições iniciais da reação, a equação de Michaelis-Menten pode ser escrita como:

$$v = \frac{v_{\max} [S]}{K_m + [S]} \quad (\text{eq. 1.18})$$

A equação 1.18 permite mostrar o comportamento da velocidade da reação com a variação da concentração do substrato.

2.2.3 Cinética enzimática para mais de um substrato

O modelo de Michaelis-Menten leva em consideração apenas um substrato se ligando a enzima. Porém esse modelo ideal nem sempre pode ser empregado nos estudos de cinética enzimática. Existem algumas equações que descrevem a cinética das reações enzimáticas para mais de um substrato e as mais utilizadas nas reações de esterificação e transesterificação são: random bi-bi, ordered bi-bi e ping pong bi-bi (VISHAKHA et al., 2013).

O nome bi-bi surge, pois, a enzima vai reagir com um dos substratos para formar um produto e uma enzima modificada, essa enzima reage com o segundo substrato para formar o produto principal e deixar a enzima como estava no início da reação (VARMA et al., 2013).

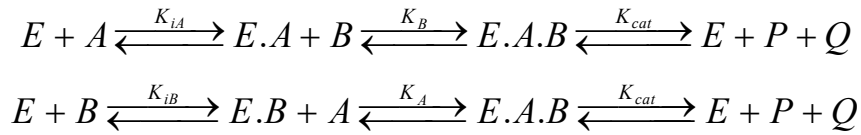
2.2.3.1 Mecanismo Random bi bi

O mecanismo random bi-bi é seguido, quando a enzima ataca um dos substratos aleatoriamente gerando o produto. O ataque em um dos substratos não altera a afinidade da enzima para o outro substrato. Assim, um rápido equilíbrio aleatório é atingido (VISHAKHA et al., 2013). O mecanismo random bi bi pode ser descrito segundo a equação 1.19.

$$v_o = \frac{v_{\max} \cdot [A] \cdot [B]}{[A] \cdot [B] + K_B \cdot [A] + K_A \cdot [B] + K_A \cdot K_B} \quad (\text{eq. 1.19})$$

Como a reação pode ocorrer em uma ordem aleatória, há duas possibilidades para o mecanismo da reação:

FIGURA 8 – MECANISMO DO MODELO RANDOM BI BI



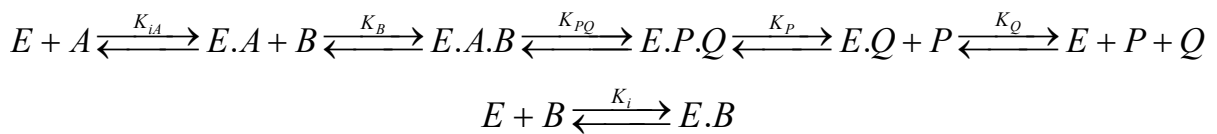
FONTE: VISHAKHA (2013).

O complexo $[E \cdot A]$, $[E \cdot B]$ e $[E \cdot A \cdot B]$ são chamados de complexo transitório. Segundo a definição de Segel (1975) um complexo transitório é qualquer espécie enzimática capaz de realizar uma reação uni molecular liberando um substrato ou produto.

2.2.3.2 Mecanismo Ordered bi bi

No mecanismo ordered bi bi a enzima reage com os substratos ordenadamente, liberando os produtos também de uma forma ordenada. Se o componente $[B]$ possui uma afinidade em se ligar com a enzima livre e não com o complexo $[E \cdot A]$, irá se formar o complexo $[E \cdot B]$, um complexo que não terá a formação do produto final desejado (dead-end complex), atacando competitivamente o sítio ativo com o substrato $[A]$. Esse mecanismo é conhecido como inibição competitiva pelo substrato. Para que isso não ocorra, escolhe-se reagir à enzima com o substrato $[A]$ primeiro, para depois colocar o segundo substrato $[B]$ na reação, formando um complexo $[E \cdot A \cdot B]$ (VISHAKHA et al., 2013).

FIGURA 9 – MECANISMO DO MODELO ORDERED BI BI



FONTE: VISHAKHA et al. (2013).

O mecanismo com inibição para ambos os substratos pode ser descrito pela equação 1.20.

$$v_o = \frac{v_{\max} \cdot [A] \cdot [B]}{[A] \cdot [B] + K_B \cdot [A] + K_A \cdot [B] \cdot \left(1 + \frac{[B]}{K_{iA}}\right) K_{iA} \cdot K_B \cdot \left(1 + \frac{[B]}{K_i}\right)} \quad (\text{eq. 1.20})$$

2.2.3.3 Mecanismo Ping Pong bi bi

Segundo Vishakha et al. (2013), no mecanismo ping pong bi bi a enzima se liga ao substrato [A], formando um complexo enzima/substrato [E·A]. Essa ligação modifica a enzima, formando uma enzima modificada, [F·P] e o produto [P]. Essa enzima modificada se liga ao segundo substrato [F·B] para formar o segundo produto [Q], restaurando a enzima como estava no início da reação.

FIGURA 10 – MECANISMO DO MODELO PING PONG BI BI



FONTE: VISHAKHA (2013).

A equação 1.21 descreve o modelo.

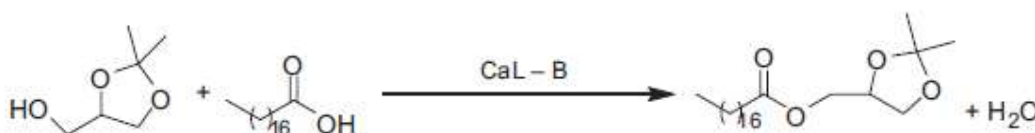
$$v_0 = \frac{V_{max}[A][B]}{[A][B] + K_B[A] + \left(1 + \frac{[A]}{K_{iA}}\right) + K_A[B] \left(1 + \frac{[B]}{K_{iB}}\right)} \quad (\text{eq. 1.21})$$

Segundo Roberts (1977) no mecanismo Ping Pong bi bi a enzima oscila entre duas formas estáveis [F·P] e [F·B]. Se ocorrer a isomerização da enzima o mecanismo é então chamado de iso Ping Pong bi bi.

O modelo ordered bi bi foi utilizado por Itabaiana *et al.* (2013) para estudar a cinética e o mecanismo da catálise por lipase para a síntese do monoacilglicerol. Os autores basearam-se pelo modelo ordered bi bi, ou seja, pela equação 1.20 e pelo mecanismo da figura 9. A enzima utilizada foi a CaL B.

O esquema da reação se encontra na figura 11.

FIGURA 11 – REAÇÃO DE ESTERIFICAÇÃO ENTRE O ÁCIDO ESTEÁRICO E SOLKETAL CATALISADA POR LIPASE CAL B IMOBILIZADA EM MICROEMULSÕES AOT



FONTE: ITABAIANA et al. (2013).

Na figura 12 encontra-se o esquema da reação segundo o mecanismo ordered bi bi.

FIGURA 12 – ESQUEMA DO MECANISMO ORDERED BI-BI



FONTE: ITABAIANA et al. (2013).

No esquema, A representa o álcool, B o ácido esteárico e E a lipase. O álcool se liga na enzima formando um complexo EA, esse complexo se liga ao próximo substrato formando o complexo EAB, liberando os produtos, água (Q) e Soketal estearato (P). Observa-se ainda a criação do complexo EB. Esse complexo chama-se “dead-end complex”, causando inibição pelo substrato ácido esteárico (B).

No trabalho, Itabaiana et al. (2013) concluíram que a água presente no final da reação aumenta conforme o aumento da taxa de reação. Além disso, com o estudo da cinética ficou claro que a reação ocorre segundo o mecanismo ordered bi bi seguido de um “dead-end complex”, que causa inibição pelo ácido esteárico.

Varma et al. (2010) utilizaram o modelo ping pong bi bi para descrever a síntese do biodiesel em álcoois e dióxido de carbono supercrítico. Os parâmetros cinéticos da equação (eq. 1.21) foram encontrados utilizando método gráfico, conforme Lineweaver-Burk. Foram ajustados os dados experimentais para a equação e plotado um gráfico $1/v_i$ versus $1/[S]$, em que v_i é a velocidade inicial da reação de transesterificação e $[S]$ é a concentração do óleo.

Os autores utilizaram dois óleos: gergelim e mostarda, em dois solventes, etanol e metanol. Os resultados obtidos foram comparados com outro trabalho publicado pelos mesmos autores para o óleo de mamona.

Ainda segundo Varma et al. (2010), quando as constantes de inibição são elevadas, a inibição da reação pelo substrato é baixa. Os valores mais elevados da constante de inibição aparente, K_{is} e K_{ia} , em comparação com as constantes aparentes de Michaelis, K_s e K_a , indica que a inibição devido ao óleo e o álcool é muito baixa em ScCO_2 (dióxido de carbono supercrítico). Devido essa baixa inibição, a enzima pode manter a sua atividade e ser reutilizada várias vezes.

A partir das comparações com os óleos de gergelim e mostarda, foram feitos estudos com o biodiesel em metanol e etanol em ScCO_2 . Com a utilização do ScCO_2 , as condições de temperatura e pressão foram reduzidas, no entanto, a conversão

ficou em cerca de 70%. Verifica-se também que com o metanol obteve-se melhores resultados comparados com o etanol.

Kahn et al. (2015) compararam a eficiência dos modelos ordered bi bi, random bi bi e ping pong bi bi para a síntese catalisada por lipase do cetil oleato utilizando ultrassom. No trabalho foram considerados vários parâmetros como: tempo de reação, temperatura, concentração de enzima, razão molar de álcool e ácido, potência do ultrassom, frequência e velocidade de agitação. Os parâmetros das equações bi bi, foram calculados por métodos gráficos utilizando regressão não linear e método dos mínimos quadrados para otimizar os dados obtidos.

Os dados foram comparados com os resultados experimentais. Segundo Kahn et al. (2015), o modelo random bi bi não se ajustou adequadamente aos dados, comparando-o com os valores dos outros dois modelos (ordered bi bi e ping pong bi bi). Por outro lado, o modelo ordered bi bi foi o que melhor se ajustou aos parâmetros cinéticos.

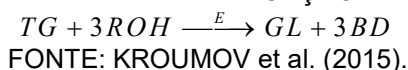
Ainda segundo Kahn et al. (2015), quando o álcool cetil se liga a enzima forma um complexo “dead end complex”, como pode ser visto na figura 9, fazendo com que o álcool imponha uma ação inibitória na reação.

Todos os valores cinéticos possuem uma importância física. Um alto valor de v_{max} indica a existência de uma tendência maior na formação do complexo enzima/substrato se separarem e formarem o produto. Altos valores de K_A e K_B indicam que há menor afinidade entre a enzima e o substrato, já um alto valor de K_{iA} indica que há aumento na ligação em sítios não catalíticos, levando a inibição (KAHN et al., 2015). Pode-se observar também que o modelo ordered bi bi apresenta melhor resultado quando considerado inibição para ambos os substratos e uma alta concentração.

Foram encontrados modelos propostos a partir do modelo ping pong bi-bi, porém com a intenção de descrever um modelo da cinética enzimática. (KROUMOV, 2007; ADEWALE, 2015).

No trabalho de Kroumov et al. (2015) foi proposto um modelo cinético que descreve a cinética enzimática da transesterificação de óleos vegetais para a produção de biodiesel. A estequiometria apresentada no modelo segue conforme a figura 13.

FIGURA 13 – ESTEQUEOMETRIA DO MODELO PARA O PROCESSO DE TRANSESTERIFICAÇÃO.



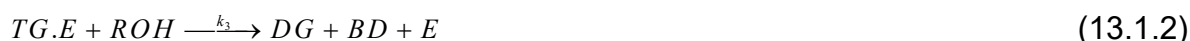
A partir da figura 13 obtiveram mais três reações consecutivas.



FONTE: KROUMOV et al. (2015).

Na figura 13, 13.1, 13.2 e 13.3 a representação de TG é para os triglicerídeos, DG diglicerídeos, MG monoglicerídeos, GL glicerol, e BD biodiesel e ROH álcool.

Para descrever essa reação foram consideradas as três reações descritas na figura 13.1, 13.2 e 13.3. Mas para Kroumov et al. (2015), essas reações não são suficientes para descrever o comportamento da reação catalisada pela enzima lipase. Então foram consideradas mais algumas reações secundárias a partir do mecanismo ping pong bi bi.



FONTE: KROUMOV et al. (2015).

A reação 13.1 tem como reações intermediárias as reações 13.1.1 e 13.1.2. A reação 13.2 tem como intermediárias as reações 13.2.1 e 13.2.2.



FONTE: KROUMOV et al. (2015).

E para a reação 13.3 temos os intermediários 13.3.1 e 13.3.2.



FONTE: KROUMOV et al. (2015).

Com as equações intermediárias, foi possível para que Kroumov et al. (2015) propusessem um modelo a partir das seguintes hipóteses (eq. 1.22 e eq. 1.23).

$$r_{[TG.E]}(t) = r_{[DG.E]}(t) = r_{[MG.E]}(t) = 0 \quad (\text{eq. 1.22})$$

$$C_E^t = C_E(t) + C_{[TG.E]}(t) + C_{[MG.E]}(t) \quad (\text{eq. 1.23})$$

As taxas de reações podem ser descritas pelas equações 1.24, 1.25 e 1.26.

$$v_{TG} = \frac{-K_{mB}(t).K_{mC}(t).V_{mA}(t)C_{TG}(t)}{\left(K_{mA}(t).K_{mB}(t).K_{mC}(t) + C_{TG}(t).K_{mB}(t).K_{mC}(t) + C_{DG}(t).K_{mA}(t).K_{mC}(t) + C_{mG}(t).K_{mA}(t).K_{mB}(t) \right)} \quad (\text{eq. 1.24})$$

$$v_{DG} = \frac{-K_{mA}(t).K_{mB}(t).V_{mB}(t)C_{DG}(t)}{\left(K_{mA}(t).K_{mB}(t).K_{mC}(t) + C_{TG}(t).K_{mB}(t).K_{mC}(t) + C_{DG}(t).K_{mA}(t).K_{mC}(t) + C_{mG}(t).K_{mA}(t).K_{mB}(t) \right)} \quad (\text{eq. 1.25})$$

$$v_{MG} = \frac{-K_{mA}(t).K_{mB}(t).V_{mC}(t)C_{MG}(t)}{\left(K_{mA}(t).K_{mB}(t).K_{mC}(t) + C_{TG}(t).K_{mB}(t).K_{mC}(t) + C_{DG}(t).K_{mA}(t).K_{mC}(t) + C_{mG}(t).K_{mA}(t).K_{mB}(t) \right)} \quad (\text{eq. 1.26})$$

FONTE: KROUMOV et al. (2015).

CTG, CDG e CMG são as concentrações dos triglicerídeos, diglicerídeos e monoglicerídeos, respectivamente. $K_m(t)$ é a constante de afinidade e $v_m(t)$ é a velocidade máxima de reação.

As expressões de velocidade máxima de reação estão representadas nas equações 1.27, 1.28 e 1.29. E as expressões das constantes de afinidade estão representadas nas equações 1.30, 1.31 e 1.32.

$$v_{\max A}(t) = k_3 \cdot C_{[ROH]}(t) \cdot C_E^t \quad (\text{eq. 1.27})$$

$$v_{mB}(t) = k_6 \cdot C_{[ROH]}(t) \cdot C_E^t \quad (\text{eq. 1.28})$$

$$v_{mC}(t) = k_9 \cdot C_{[ROH]}(t) \cdot C_E^t \quad (\text{eq. 1.29})$$

$$K_{mA}(t) = \frac{k_2 + k_3 \cdot C_{[ROH]}(t)}{k_1} \quad (\text{eq. 1.30})$$

$$K_{mB}(t) = \frac{k_5 + k_6 \cdot C_{[ROH]}(t)}{k_4} \quad (\text{eq. 1.31})$$

$$K_{mC}(t) = \frac{k_8 + k_9 \cdot C_{[ROH]}(t)}{k_7} \quad (\text{eq. 1.32})$$

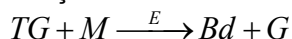
FONTE: KROUMOV et al. (2015).

Os subíndices A, B e C referem-se às reações 13.1, 13.2 e 13.3. C_{ROH} e C_E^t referem-se respectivamente às concentrações de álcool e enzima em função do tempo.

Com o balanço de massa de cada espécie, obteve-se um conjunto de equações diferenciais para um reator batelada. As equações foram resolvidas pelo método de Backward Differentiation Formulae (BDF). Pela técnica dos mínimos quadrados, os parâmetros foram estimados utilizando o método numérico de Levenberg-Marquardt com Broyden-Fletcher-Goldfarb-Shanno, BFGS, atualizando a matriz Hessiana e uma tolerância relativa do erro de 10^{-4} . O sistema de equações diferenciais ordinárias foi integrado pelo método BDF com tolerância relativa do erro de 10^{-4} e erro absoluto de tolerância 10^{-6} . Foram retirados dados experimentais da literatura com várias condições operacionais diferentes para validar o modelo.

Adewale et al. (2015) também propuseram um modelo que descreve a transesterificação para a produção do biodiesel a partir do resíduo de sebo de animais bovinos em ultrassom. A reação considerada segue abaixo:

FIGURA 14 – REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO



FONTE: ADEWALE et al. (2015).

A partir dessa reação, obteve-se as reações secundárias seguindo o mecanismo ping pong bi bi.



FONTE: ADEWALE et al. (2015).

Em que TG representa os triglicerídeos, E a enzima, M o metanol, Bd o biodiesel e G o glicerol. Na reação 14.1 forma-se o complexo ETG liberando a enzima modificada e o biodiesel. Essa enzima modificada se liga ao segundo substrato M (14.2) formando o complexo E'M, liberando o segundo produto (G) e restaurando a enzima na forma original do começo da reação.

A partir dessas reações e do balanço de massa de cada espécie, obteve-se um conjunto de equações diferenciais.

$$\frac{d[TG]}{dt} = k_{-1} \cdot [TG] \cdot [E] + k_2 \cdot [ETG] \quad (\text{eq. 1.31.1})$$

$$\frac{d[M]}{dt} = -k_4 \cdot [M] \cdot [E'] + k_5 \cdot [E'M] \quad (\text{eq. 1.31.2})$$

$$\frac{d[Bd]}{dt} = k_3 \cdot [ETG] \quad (\text{eq. 1.31.3})$$

$$\frac{d[G]}{dt} = k_6 \cdot [E'M] \quad (\text{eq. 1.31.4})$$

$$\frac{d[E]}{dt} = -k_1 \cdot [TG] \cdot [E] + k_2 [ETG] + k_6 [E'M] \quad (\text{eq. 1.31.5})$$

$$\frac{d[E']}{dt} = -k_4 \cdot [M] \cdot [E'] + k_5 [E'M] + k_3 [ETG] \quad (\text{eq. 1.31.6})$$

$$\frac{d[ETG]}{dt} = k_1 \cdot [TG] \cdot [E] - k_2 [ETG] - k_3 [ETG] \quad (\text{eq. 1.31.7})$$

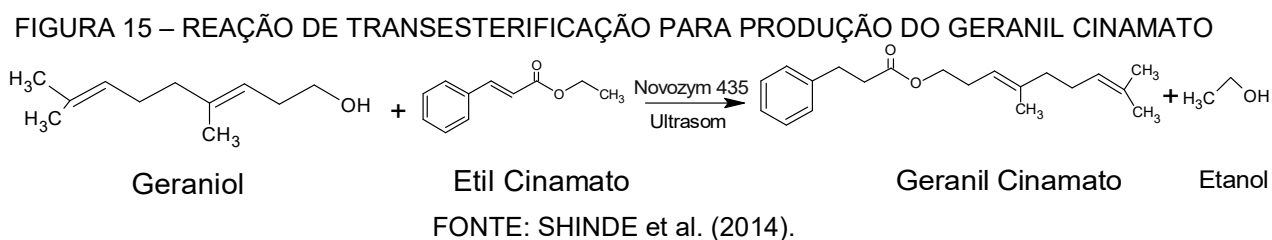
$$\frac{d[E'M]}{dt} = k_4 \cdot [M] \cdot [E'] - k_5 [E'M] - k_6 [E'M] \quad (\text{eq. 1.31.8})$$

FONTE: ADEWALE et al. (2015).

Para resolver as equações diferenciais e obter os valores das constantes de velocidade (k_1 , k_2 , k_3 , k_4 , k_5 e k_6), foi utilizado um software matemático com a função NDSolve, que utiliza o método de Runge-Kutta. Foram gerados gráficos dos dados experimentais e do modelo para obter um melhor ajuste das estimativas das constantes de velocidade.

Outra forma de obter os valores das constantes de reação é utilizando o ultrassom. No trabalho de Adewale et al. (2015), os valores das constantes de velocidade de reação de k_1 a k_6 muda significativamente com a diferença de amplitude do ultrassom. Um aumento rápido da taxa de reação direta (k_1 , k_3 , k_4 e k_6) e uma diminuição na taxa da reação reversa (k_2 e k_5) foi observado na amplitude de 40%. Isso pode ser possível devido a uma sinergia negativa entre a sonicação e uma alta amplitude de ultrassom. Todas as constantes de velocidade de reação k_6 obtidas foram negativas. Segundo Adewale et al. (2015), isso ocorreu, possivelmente, porque a combinação do glicerol com o biodiesel é limitada durante o processo de ultrassom para a transesterificação.

Shinde et al. (2014) estudaram a otimização e o modelo cinético do geranil cinamato em ultrassom, obtido por uma reação de transesterificação catalisada por enzima. Foram utilizadas três enzimas: Lipozyme RM IM, Lipozyme TL IM e Novozym 435. A reação está descrita na figura 15.



Para produzir o geranil cinamato é necessário reagir o éster etil cinamato com o álcool geraniol. Como meio de viabilizar a reação utiliza-se catalizadores, como a enzima lipase. O subproduto gerado na reação é o etanol.

A principal intenção do trabalho de Shinde et al. (2014) é comparar a reação quando aquecida convencionalmente com aquecimento em ultrassom por irradiação de micro-ondas. Uma velocidade de reação foi encontrada 4,2 vezes maior para o aquecimento por irradiação de micro-ondas, comparado com o aquecimento normal, o que, segundo Shinde et al. (2014), resultou em uma diminuição do tempo de reação para uma mesma conversão.

Outro objetivo do trabalho de Shinde et al. (2014) é comparar a eficiência das diferentes enzimas lipases, com os experimentos realizados. Os autores obtiveram conversões de 8% e 83% das enzimas Lipozyme RM IM e Novozym 435, respectivamente. Para enzima Lipozyme TL IM, os resultados obtidos, nessas

mesmas condições, foram considerados insignificantes. Segundo Shinde et al. (2014), os resultados de conversão obtidos para a enzima Novozym 435 ocorreu, pois as micro-ondas que envolvem os sítios ativos favorecem uma interação adequada para o substrato, enquanto para as enzimas Lipozyme RM IM e Lipozyme TL IM as micro-ondas projetam um impedimento estereoquímico na ligação do substrato no sítio ativo, fazendo com que a conversão em produto seja muito baixa.

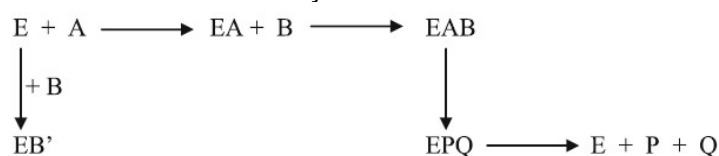
Shinde et al. (2014) estudaram também o efeito da temperatura sob a conversão. A temperatura estudada variava de 40°C a 70°C, representando uma conversão de 23% e 83%, respectivamente.

Para o estudo da cinética enzimática, Shinde et al. (2014) utilizaram como base o modelo ping pong bi bi com inibição para o geraniol. A equação 1.32 descreve a velocidade da reação.

$$v_o = \frac{v_{\max} \cdot [A] \cdot [B]}{K_{iA} \cdot K_{mB} \cdot \left(1 + \frac{[B]}{K_{iB}}\right) + K_{mB} \cdot [A] + K_{mA} \cdot [B] \cdot \left(1 + \frac{[B]}{K_{iB}}\right) + [A] \cdot [B]} \quad (\text{eq. 1.32})$$

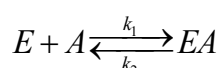
Um mecanismo foi proposto a partir dos modelos mecanístico ping pong bi bi, como segue na figura 16.

FIGURA 16 – MODELO MECANÍSTICO PROPOSTO PARA A REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO DO GERANIL CINAMATO



FONTE: SHINDE et al. (2014).

A enzima (E) se liga ao etil cinamato, formando um complexo (EA). Esse complexo se liga ao geraniol, formando o segundo complexo (EAB), que forma um complexo (EPQ), liberando a enzima como estava no início da reação e os produtos geraniol cinamato (P) e o etanol (Q). As reações podem ser descritas conforme as figuras 16.1, 16.2, 16.3 e 16.4.



16.1



A figura 16.6 representa o complexo “dead end complex”, quando a enzima se liga primeiro no substrato B (geraniol), causando assim uma inibição.

Os valores das constantes da equação 1.32 foram obtidos pelo software Polymath 6.0. Os valores das constantes obtidas foram: $V_{\max} = 0,0051$ mol/L, $K_{mA} = 0,244$ mol/L, $K_{mB} = 0,325$ mol/L, $K_{iA} = 0,0015$ mol/L $K_{iB} = 0,0327$ mol/L. Segundo Shinde et al. (2014), foram obtidos ótimos resultados de correlação, $R^2 = 0,9457$, dos dados experimentais e dos dados simulados, validando assim o mecanismo com inibição pelo geraniol.

2.3 POLIURETANO

Segundo Mano (1999), o Poliuretano (PU) é um material versátil. Dependendo dos monômeros e do catalisador adicionados na reação, uma variedade de materiais pode ser obtida, podendo resultar em borrachas, plásticos ou fibras de natureza termoplástica. Os diisocianatos utilizados podem ser do tipo aromático ou alifático. Os mais utilizados são 4,4 – diisocianato de difenilmetano (MDI) e mistura de 2,4 e 2,6 diisocianato de tolileno (TDI). Já os dióis podem ser do tipo poliéster ou poliéter.

A escolha dos reagentes para a síntese dos poliuretanos, bem como, a proporção entre eles é responsável pelas diferentes propriedades físicas e química dos produtos finais, que irão direcionar as aplicações do PU (ALVES et al. 2014).

O PU é um polímero de grande importância industrial. A sua reação é feita através da policondensação, é um material termoplástico de alta resistência à abrasão. Sua aplicação mais comum é em amortecedores, diafragmas e válvulas de equipamentos industriais para processo de transporte de minérios, materiais esportivos, blocos e folhas de espuma flexíveis para estofamento de carros e móveis.

2.3.1 Policondensação

Segundo Mano (1999), a policondensação é uma reação em etapas em que não há distinção reacional entre o início da formação do polímero e o crescimento macromolecular, ou a interrupção desse crescimento. A conversão de produto é alta, porém o crescimento da cadeia polimérica é vagaroso e a cadeia somente alcança peso molecular elevado após o tempo suficiente para a intercondensação dos segmentos menores.

As reações na policondensação em geral são reversíveis e o crescimento da cadeia depende de remoção dos subprodutos que são micromoléculas. A medida que os segmentos moleculares vão sendo incorporados, o meio reacional se torna cada vez mais viscoso, o que dificulta a remoção desses subprodutos.

No estudo de Alves et al (2014) a expansão da espuma foi monitorada através de técnicas de análise de imagem. Os autores estudaram a variação na altura e a mudança na densidade da espuma de poliuretano em função do tempo de polimerização. Assim os autores concluíram que as técnicas de análise de imagem podem ser utilizadas para o monitoramento da expansão de poliuretanas em tempo real durante o processo de polimerização.

2.4 PARÂMETROS

Segundo Segel (1975), existem alguns métodos para determinar os parâmetros das equações que descrevem a cinética de uma reação enzimática. Esses métodos podem ser: analítico, gráfico, direto e linear direto. Assim os parâmetros encontrados nas equações podem ser obtidos utilizando alguns métodos matemáticos, modelos propostos ou já existentes e modelagem dos dados experimentais.

O modelo pode ser definido como uma estrutura que tenta descrever de forma aproximada a realidade, baseado em um conjunto de observações experimentais. Portanto, um modelo é uma estrutura que estabelece vínculo entre variáveis distintas que permitem explicar os eventos passados e prever, de alguma forma, o

comportamento do sistema em condições experimentais ainda não realizadas (SCHWAAB; PINTO, 2007).

Segundo Schwaab e Pinto (2007), o modelo pode ser representado de várias formas, dependendo do propósito do pesquisador, das limitações das observações experimentais e da complexidade dos fenômenos investigados.

2.4.1 Modelos Matemáticos

Os modelos matemáticos propõem que as relações entre as diversas variáveis de um problema podem ser descritas de forma matemática precisa (SCHWAAB; PINTO, 2007). Segundo Lage e Pinto (2001), modelos matemáticos podem ser classificados como teóricos e empíricos. Modelos teóricos são aqueles desenvolvidos a partir de pressupostos teóricos que tentam descrever de forma fundamentada os vários aspectos envolvidos no problema. Modelos empíricos são aqueles que não são baseados em quaisquer pressupostos teóricos.

Schwaab e Pinto (2007) classificam os modelos como lineares e não lineares. Pode-se dizer que um modelo é linear quando segue as seguintes propriedades:

1. Em que um conjunto de variáveis (eq. 1.33), chamadas de variáveis de saída ou variáveis dependentes, e um segundo conjunto de variáveis (eq. 1.34), chamadas variáveis de entrada ou variáveis independentes, pode ser escrito na forma de um modelo matemático *explícito*, como mostra a equação 1.35. Esse modelo só será linear se obedecer à equação 1.36.

$$y^T = [y_1, y_2 \dots y_{NY}] \quad (\text{eq. 1.33})$$

$$x^T = [x_1, x_2 \dots x_{NX}] \quad (\text{eq. 1.34})$$

$$y = \begin{bmatrix} y_1 \\ y_2 \\ \dots \\ y_{NY} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} f_1(x_1, x_2 \dots x_{NX}) \\ f_2(x_1, x_2 \dots x_{NX}) \\ \dots \\ f_{NY}(x_1, x_2 \dots x_{NX}) \end{bmatrix} = f(x) \quad (\text{eq. 1.35})$$

$$y = f(\alpha x + \beta w) = \alpha f(x) + \beta f(w) \quad (\text{eq. 1.36})$$

O modelo descrito na equação 1.35 é dito explícito, pois permite a obtenção direta pela equação 1.36 dos valores das variáveis dependentes a partir dos valores das variáveis independentes.

2. Em que um conjunto de variáveis (eq. 1.33), chamadas de variáveis de saída ou variáveis dependentes, e um segundo conjunto de variáveis (eq. 1.34), chamadas variáveis de entrada ou variáveis independentes, pode ser escrito na forma de um modelo matemático *implícito*, como mostra a equação 1.37. Esse modelo só será linear se obedecer à equação 1.38.

$$g(z) = \begin{bmatrix} g_1(x_1, x_2 \dots x_{NX}; y_1, y_2 \dots y_{NY}) \\ g_2(x_1, x_2 \dots x_{NX}; y_1, y_2 \dots y_{NY}) \\ \dots \\ g_{NY}(x_1, x_2 \dots x_{NX}; y_1, y_2 \dots y_{NY}) \end{bmatrix} \quad (\text{eq. 1.37})$$

$$g(\alpha z + \beta w) = \alpha g(z) + \beta g(w) \quad (\text{eq. 1.38})$$

Nas equações 1.38 e 1.36, α e β são escalares quaisquer.

O modelo descrito na equação 1.38 é dito implícito, pois não permite a obtenção direta dos valores das variáveis independentes. Assim, o modelo deve ser resolvido para que fique na forma da equação 1.36. Para que a equação 1.38 seja resolvida, um método numérico pode ser aplicado sem que seja necessário encontrar uma solução analítica.

2.4.2 Estimação de Parâmetros

Para Schwaab e Pinto (2007), os parâmetros do modelo são os números que tornam possível a previsão quantitativa das relações existentes entre as diversas variáveis do problema, por meio da estrutura do modelo. Independente da estrutura ou origem do modelo matemático utilizado, quase sempre há certos números ou parâmetros que não podem ser calculados. Sendo assim, em alguns casos o modelo não pode ser utilizado, nem estabelece vínculo entre as variáveis. Porém, pode-se utilizar a técnica de estimativas de parâmetros para que esses valores sejam encontrados.

Estimar parâmetros consiste então em obter dados experimentais e comparar esses dados com estruturas que pretendem explicá-los. Assim os parâmetros se tornam as verdadeiras variáveis consideráveis do modelo.

2.5 MÉTODOS NUMÉRICOS

Segundo Davis (1984), muitos problemas na engenharia podem ser formulados com equações diferenciais. Para Chapra e Canale (2010), antes da era computacional, havia três maneiras de resolver problemas envolvidos na engenharia: utilizando métodos analíticos exatos, utilizando soluções gráficas e utilizando calculadoras e réguas que eram empregadas para implementar a resolução de métodos numéricos.

De acordo com Cunha (2015), existem estimativas que apontam que, a cada quatro problemas de simulação em matemática, três convertem-se em soluções de sistemas de equações. Uma fonte substancial de sistemas de equações, lineares ou não-lineares, é a solução de equações diferenciais por via dos métodos de discretização. Ainda segundo Cunha (2015), os sistemas que resultam da discretização das equações diferenciais são muito grandes e tem características de esparsidade que auxiliam na solução numérica. Outras fontes de sistemas são problemas de ajuste de dados, de minimização de funções e problemas inversos.

2.6 ALGORITMO GENÉTICO

O algoritmo genético é uma ferramenta de otimização e, segundo Goldberg (1989), foi desenvolvido por John Holland, seus colegas e alunos da universidade de Michigan, essa pesquisa teve dois objetivos principais:

1. Abstrair e explicar rigorosamente os processos adaptativos do sistema natural.
2. Projetar um software de sistema artificial que contém os importantes mecanismos do sistema natural.

Para Goldberg (1989), o algoritmo genético se destaca de outras ferramentas de otimização em quatro maneiras:

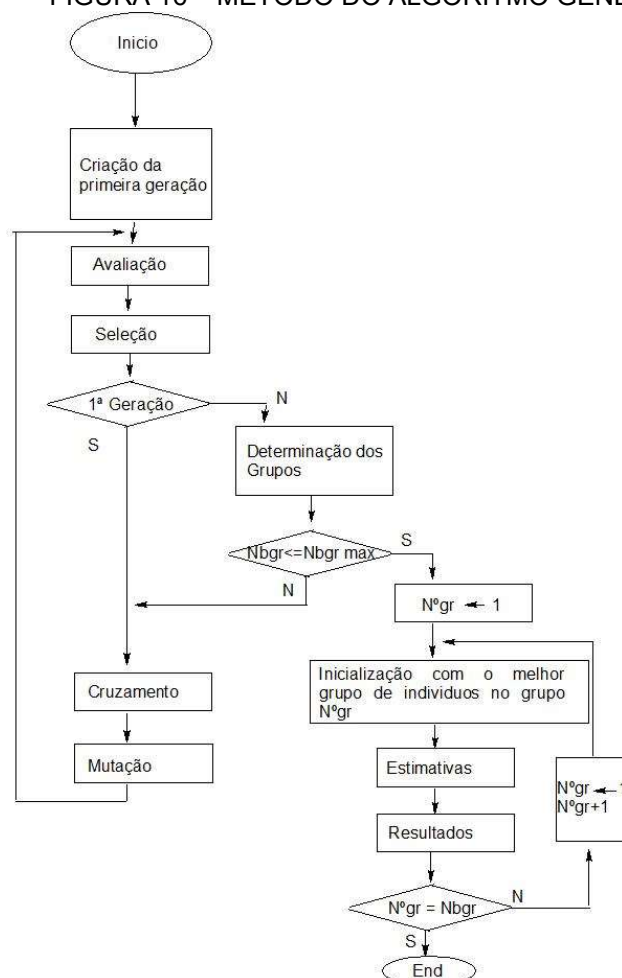
1. Trabalha com uma codificação do conjunto dos parâmetros e não com os próprios parâmetros.

2. Procura uma “população” de pontos e não apenas um.
3. Utiliza informações da função objetivo e não derivados ou outros conhecimentos auxiliares.
4. Utiliza regra de transição probabilística e não regras determinísticas.

O algoritmo genético busca uma solução ideal para um problema que possui grande números de parâmetros ajustáveis. Também utilizada para sistemas não lineares, o algoritmo genético permite que os parâmetros encontrados cheguem nos valores próximos dos valores experimentais (LAUTENBERGER et al., 2005).

Balland et al. (2000) utilizaram um algoritmo genético com código decimal para estimar parâmetro cinético e energéticos da saponificação do acetato de etila. O método do algoritmo trabalhado por Balland et al. (2000) encontra-se na figura 17.

FIGURA 16 – MÉTODO DO ALGORITMO GENÉTICO



FONTE: BALLAND et al. (2000).

Os passos são utilizados para detectar a zona espacial dos parâmetros. A população de indivíduos é dividida em grupos, os indivíduos pertencentes em cada

grupo são decididos de acordo com a distância euclidiana entre eles. Se o indivíduo dos grupos Nbgr tiverem valores muito elevados, o algoritmo genético continua até que esse valor diminua. Esse limite é fixado pelo utilizador. Em seguida, inicializa-se uma convergência com os melhores indivíduos de cada grupo. A primeira geração de indivíduos é aleatória e pode ser escolhida de várias maneiras.

Dois genitores são aleatoriamente escolhidos entre os indivíduos. Esses genitores são combinados gerando dois novos indivíduos. Esses indivíduos são escolhidos aleatoriamente para completar a população, podendo assim sofrer ou não uma mutação. Essa mutação é determinada por uma probabilidade. Segundo Balland et al. (2000), o número de mutações diminui linearmente com o número de gerações. Quanto maior o número de gerações, mais perto se está da solução, desse modo, não há a necessidade de fazê-los sofrerem mutação com frequência. Para aumentar a eficiência da estimação de parâmetros, é importante escolher os parâmetros mais sensíveis possíveis para estimar.

A conclusão que Balland et al. (2000) chegaram, é que o algoritmo genético detecta as zonas confiáveis dos valores dos parâmetros e determina rapidamente uma área de mínimos. Assim o método é capaz de dar não apenas uma resposta e sim um conjunto de respostas, ficando a critério do pesquisador qual conjunto de parâmetros se encaixa melhor com o problema apresentado.

2.7 CONSIDERAÇÕES

Assim como a modelagem, a otimização também é uma etapa importante para prever um modelo que descreva os dados experimentais. A otimização de bioprocessos com vários parâmetros requer que a parte experimental seja bastante sólida, com vários dados, para que seja estudado o efeito dos diversos fatores que irão influenciar a reação em função do tempo (KROUMOV et al., 2007).

As reações catalisadas por enzimas apresentam certas vantagens em relação ao método convencional. As enzimas têm a capacidade de, principalmente, acelerar o tempo de reação e, muitas vezes, diminuir a temperatura do processo. A enzima mais utilizada para catálises enzimáticas é a lipase. Ela substitui os catalisadores de difícil remoção do produto final e pode ser considerada química verde, pois não agride ao meio ambiente. (YADAV et al., 2015).

Há um número considerável de enzimas lipases que são capazes de atuar na esterificação e transesterificação e vários estudos estão desvendando a utilização de lipase propícia para cada tipo de substrato (KROUMOV et al., 2007).

Segundo Reed e Alb (2014) o estudo do monitoramento de reações de polimerização apresenta algumas lacunas. Na literatura ainda carece de trabalhos que envolvam análise de imagem para o monitoramento em tempo real da expansão de poliuretanas (ALVES et al. 2014).

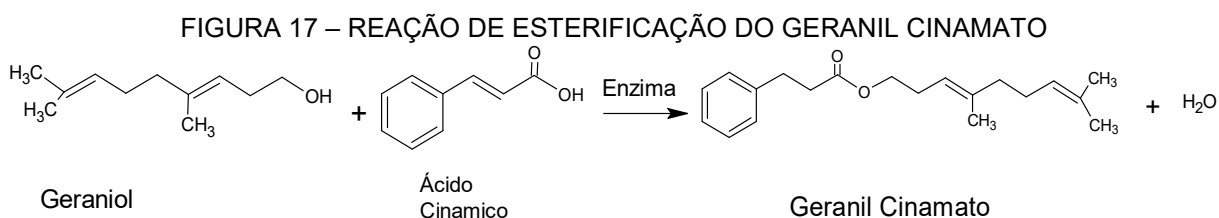
3 MÉTODOS

Os dados experimentais das reações de esterificação e transesterificação para a produção do geranil cinamato foram obtidos a partir de experimentos realizados no laboratório de engenharia química e engenharia de alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina e retirados do trabalho de Zanetti et al., 2016. A principal intenção é obter o geranil cinamato por dois meios, esterificação e transesterificação, utilizando a enzima lipase NS88011 como catalisador da reação. Na reação de esterificação os reagentes geraniol e ácido cinâmico reagem para formar o geranil cinamato, e na reação de transesterificação os reagentes etil cinamato e geraniol reagem para também formar o geranil cinamato.

Os dados experimentais da formação do poliuretano foram obtidos através do trabalho de Alves (2011). Um dos objetivos do trabalho é o estudo de técnicas de processamento, análise de imagens e suas aplicações em sistemas de monitoração de processos e a validação do sistema de análise de imagem por meio de testes experimentais, levando em consideração a importância da análise estatística dos resultados. Neste trabalho, optou-se por utilizar o MDI puro e o poliálcool poliéter. Alternando a concentração de cada monômero obteve-se dois conjuntos distintos de dados experimentais (altura em função do tempo).

3.1 MECANISMOS E CINÉTICAS DA REAÇÕES DA PRODUÇÃO DO GERANIL CINAMATO

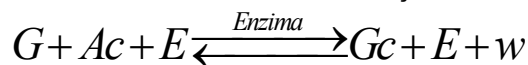
Segundo Segel (1975), é possível obter equações diferenciais para descrever uma catálise enzimática. A reação de esterificação está descrita na figura 17.



FONTE: O autor (2017).

A partir da figura 17 foi possível propor um modelo mecanístico, como segue na figura 18.

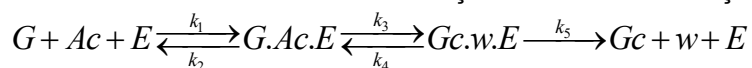
FIGURA 18 – MODELO MECANÍSTICO DA REAÇÃO DE ESTERIFICAÇÃO



FONTE: O autor (2017).

Na figura 18 as letras G, Ac, E, Gc e w representam, respectivamente, o geraniol, ácido cinâmico, enzima, geranil cinamato e a água. Apenas com a figura 18 não é possível obter equações diferenciais que possam descrever a reação de formação do geranil cinamato. Assim mais algumas etapas foram consideradas, como mostram as figuras 19.

FIGURA 19 – MODELO MECANÍSTICO DA REAÇÃO DE ESTERIFICAÇÃO



FONTE: O autor (2017).

Na figura 19 o ácido cinâmico se liga a enzima, formando um complexo enzima/substrato, esse complexo se liga ao geraniol, formando um novo complexo. Na figura o complexo [G·Ac·E] é o intermediário para a formação do segundo complexo [Gc·w·E] que forma os produtos, geranil cinamato e água. A enzima retorna ao estado inicial do começo da reação. Com as reações da figura 19 foi possível encontrar um sistema de equações diferenciais que seguem nas equações 2.1 a 2.7.

$$\frac{d[G]}{dt} = -k_1 \cdot [Ac] \cdot [E] \cdot [G] + k_2 \cdot [G.Ac.E] \quad (\text{eq. 2.1})$$

$$\frac{d[Ac]}{dt} = -k_1 \cdot [Ac] \cdot [E] \cdot [G] + k_2 \cdot [G.Ac.E] \quad (\text{eq. 2.2})$$

$$\frac{d[G.Ac.E]}{dt} = k_1 \cdot [Ac] \cdot [E] \cdot [G] - k_2 \cdot [G.Ac.E] - k_3 \cdot [G.Ac.E] + k_4 \cdot [Gc.w.E] \quad (\text{eq. 2.3})$$

$$\frac{d[Gc.w.E]}{dt} = k_3 \cdot [G.Ac.E] - k_4 \cdot [Gc.w.E] - k_5 \cdot [Gc.w.E] \quad (\text{eq. 2.4})$$

$$\frac{d[Gc]}{dt} = k_5 \cdot [Gc.w.E] \quad (\text{eq. 2.5})$$

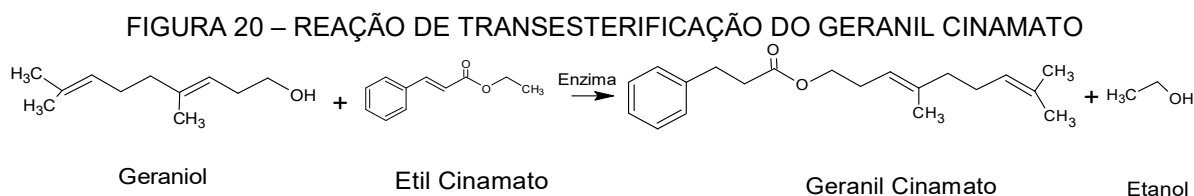
$$\frac{d[E]}{dt} = -k_1 \cdot [Ac] \cdot [E] \cdot [G] + k_2 \cdot [G.Ac.E] + k_5 \cdot [Gc.w.E] \quad (\text{eq. 2.6})$$

$$\frac{d[w]}{dt} = k_5 \cdot [Gc.w.E] \quad (\text{eq. 2.7})$$

A obtenção das equações diferenciais é feita por meio de um balanço de massa das reações das figuras 19, considerando as equações elementares e um

reator em batelada a volume constante, isotérmico e sem mudança de densidade dos reagentes e produtos. A equação 2.7 representa a formação da água durante a reação de esterificação.

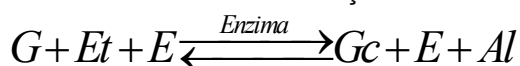
Na reação de transesterificação o etil cinamato reage com o geraniol, formando o geranil cinamato e etanol, como se pode ver na figura 20.



FONTE: O autor (2017).

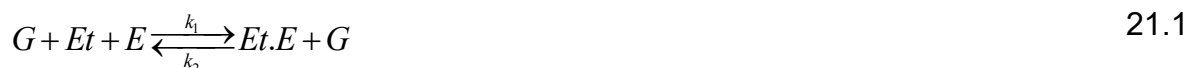
A partir da figura 20, gerou-se o modelo mecanístico da figura 21:

FIGURA 21 – MODELO MECANÍSTICO DA REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO.



FONTE: O autor (2017).

Na reação da figura 21 as letras G, Et, E, Gc e Al representam, respectivamente, o geraniol, etil cinamato, enzima, geranil cinamato e o etanol. Do mesmo modo realizado na esterificação, foi possível obter as reações das figuras 21.1, 21.2 e 21.3.



Com as reações das figuras 21.1, 21.2 e 21.3 obteve-se as equações diferenciais 2.8 a 2.14. Considerando um balanço de massa em um reator em batelada, a volume constante, isotérmico e sem mudança de densidade dos reagentes e produtos.

$$\frac{d[G]}{dt} = -k_1.[Et].[E].[G] + k_2.[Et.E].[G] \quad (\text{eq. 2.8})$$

$$\frac{d[Et]}{dt} = -k_1.[Et].[E].[G] + k_2.[Et.E].[G] \quad (\text{eq. 2.9})$$

$$\frac{d[EtE]}{dt} = k_1.[Et].[E].[G] - k_2.[EtE].[G] - k_3.[EtE].[G] + k_4.[EtEG] \quad (\text{eq. 2.10})$$

$$\frac{d[EtEG]}{dt} = k_3.[EtE].[G] - k_4.[EtEG] - k_5.[EtEG] \quad (\text{eq. 2.11})$$

$$\frac{d[Gc]}{dt} = k_5.[EtEG] \quad (\text{eq. 2.12})$$

$$\frac{d[Al]}{dt} = k_5.[EtEG] \quad (\text{eq. 2.13})$$

$$\frac{d[E]}{dt} = -k_1.[Et].[E].[G] + k_2.[EtE].[G] + k_5.[EtEG] \quad (\text{eq. 2.14})$$

Observa-se que tanto na reação de esterificação quanto a de transesterificação obtêm-se um sistema de equações diferenciais, em que as concentrações das substâncias ficam em função do tempo e para ambas as reações há cinco parâmetros, esses parâmetros são as constantes de velocidade (k_1 , k_2 , k_3 , k_4 , k_5). Sem esses valores não é possível verificar se o modelo é adequado para representar essa reação.

3.2 OBTENÇÃO DOS PARÂMETROS

Avaliando as equações diferenciais, percebe-se que existe uma possibilidade de infinitas combinações de resultados para os valores dos parâmetros (constante de velocidade), assim, para determiná-los, utilizou-se uma ferramenta de otimização. A técnica utilizada foi a de algoritmo genético. No quadro 1 apresenta-se o algoritmo utilizado para a implementação da técnica que foi empregada para a estimação dos parâmetros da constante de velocidade (k_1 , k_2 , k_3 , k_4 , k_5) para a reação de esterificação e a transesterificação.

QUADRO 1 – ETAPAS UTILIZADAS PARA O ALGORITMO GENÉTICO

| Etapas 01 – Parâmetros e inicialização |
|--|
| <p>Passo 1: Definir a quantidade de indivíduos N (Cada indivíduo é formado por cinco valores, k_1, k_2, k_3, k_4, k_5).</p> <p>Passo 2: Definir a quantidade de gerações M.</p> |

| |
|--|
| <p>Passo 3: Definir a probabilidade de cruzamento (PCRUA) e a probabilidade de mutação (PMUTA).</p> |
| <p>Etapa 02 – Cálculo da Geração 1</p> |
| <p>Passo 4: Escolher a população inicial (ou seja, $N, k_1, k_2, k_3, k_4, k_5$).</p> <p>Passo 5: Calcular a função objetivo para cada indivíduo</p> <p>Cálculo da geração j, ($j = 2..M$)</p> <p><i>Cálculo do indivíduo i ($i = 1..N$) da geração j</i></p> <p>Passo 6: Sortear dois indivíduos da geração anterior</p> <p>Passo 7: Sortear um número aleatório A entre 0 e 1</p> <p>Passo 8: Se $A \leq PCRUA$ então fazer o cruzamento.</p> <p><i>Passo 8.1:</i> O indivíduo i é formado pela média aritmética de k_1, k_2, k_3, k_4, k_5, dos indivíduos escolhidos no passo 6.</p> <p>Passo 9: Se $A > PCRUA$ então não fazer o cruzamento.</p> <p><i>Passo 9.1:</i> O indivíduo i é formado por k_1, k_2, k_3, k_4, k_5 do indivíduo sorteado no passo 6 que possui o menor valor da função objetivo.</p> <p>Passo 10: Sortear um número aleatório B entre 0 e 1.</p> <p>Passo 11: Se $B \leq PMUTA$ então fazer a mutação</p> <p><i>Passo 11.1:</i> O indivíduo i é formado por k_1, k_2, k_3, k_4, k_5, acrescido ou decrescido 10% do seu valor.</p> <p><i>Passo 11.2:</i> Calcular a função objetivo para os parâmetros k_1, k_2, k_3, k_4, k_5, do passo 11.1.</p> <p>Passo 12: Se $B > PMUTA$ então não fazer a mutação.</p> <p><i>Passo 12.1:</i> O indivíduo i é formado por k_1, k_2, k_3, k_4, k_5, acrescido ou decrescido uma porcentagem do seu valor.</p> <p>Passo 13: Se $B > PMUTA$ não fazer a mutação.</p> <p><i>Passo 13.1:</i> Se houver cruzamento, calcular o valor da função objetivo.</p> <p>Passo 14: $i \leftarrow i+1$</p> <p>Passo 15: Se $i < N$, então ir para o passo 6 (ainda não foram obtidos dos os indivíduos da geração J).</p> <p>Passo 16: Se $i > N$, então $J \leftarrow J+1$</p> <p><i>Passo 16.1:</i> Se $J < M$ então ir para o passo 6 (foram obtidos dos os indivíduos da geração J, deve-se iniciar o cálculo da geração $J+1$).</p> |

Passo 16.2: Se $J > M \rightarrow$ Finaliza a estimação.

FONTE: O autor (2017).

A técnica de algoritmo genético depende da quantidade de indivíduos existente em cada geração de população. Se houver poucos indivíduos, o algoritmo genético realizará poucos cruzamentos, assim apenas uma parte da solução será explorada. Por outro lado, se houver grande quantidade de indivíduos isso exigirá um esforço computacional maior para estimar os parâmetros.

3.3 MÉTODO NUMÉRICO PARA RESOLUÇÃO DO SISTEMA DE EQUAÇÕES

Com os parâmetros estimados é possível realizar o cálculo das equações diferenciais 2.1 a 2.7 para a esterificação e 2.8 a 2.14 para a transesterificação. Para realizar o cálculo desses sistemas de equações diferenciais, utilizou-se o FORTRAN e a biblioteca numérica IMSL que utiliza o método de Quase-Newton.

3.3.1 Quase-Newton

Definiu-se como método quase-Newton aqueles algoritmos para sistemas não lineares cuja iteração tem o formato da equação 2.15 e 2.16. (MARTINEZ; SANTOS, 1998).

$$B_k s_k = -F(x_k) \quad (\text{eq. 2.15})$$

$$x_{k+1} = x_k + s_k \quad (\text{eq. 2.16})$$

O método de quase-newton faz uso da aproximação para a hessiana. Nesse caso, B_k é uma aproximação da matriz hessiana $H(x_k)$, obtida por iteração quando utilizada informações geradas pelos passos precedentes do algoritmo, gerando uma sequência x_k , que quando converge, tem uma boa taxa de convergência (GONZAGA, 2004). A iteração do algoritmo é dada pela equação 2.16.

Segundo Martínez e Santos (1998), para sistemas de equações não lineares o problema é em encontrar $x \in \mathbb{R}^n$, tal que $F(x) = 0$ com $F : \mathbb{R}^n \rightarrow \mathbb{R}^n$, pelo Método de

quase-Newton. Assim, é necessário realizar uma aproximação da secante de $F(x)$ nos pontos x_k e x_{k+1} .

$$F(x_{k+1}) - F(x_k) = \nabla F(x_k)(x_{k+1} - x_k) \quad (\text{eq. 2.17})$$

Ao substituírmos alguns termos da equação 2.17 por y_k , tem-se a equação 2.18.

$$\nabla F(x_k)s_k = y_k \quad (\text{eq. 2.18})$$

Assim é possível aproximar $\nabla F(x_k)$ por uma matriz B_k , nos pontos x_k e x_{k+1} . Como consequência, obtém-se o sistema da equação 2.19.

$$B_k s_k \cong y_k \quad (\text{eq. 2.19})$$

A equação 2.19 é denominada equação secante e pode ser considerada um sistema linear cuja incógnita é a matriz linear B_k . O sistema tem n^2 variáveis e apenas n equações. Desse modo, apenas quando $n = 1$ o sistema poderá ter solução única. Se $n > 1$ e $s_k \neq 0$ haverá infinidade de matrizes B_k que satisfazem a equação secante (MARTÍNEZ; SANTOS, 1998).

A matriz B_k é obtida por meio do método de BFGS que, segundo Martínez e Santos (1998), foi descoberta por Broyden, Fletcher, Goldfarb e Shanno em 1970. É a atualização secante mais popular para minimização sem restrições e está descrita na equação 2.20.

$$B_{k+1} = B_k + \frac{y_k y_k^T}{y_k^T s_k} - \frac{B_k s_k s_k^T B_k}{s_k^T B_k s_k} \quad (\text{eq. 2.20})$$

A equação 2.20 tem propriedades de produzir, geralmente, matrizes definidas positivas e, portanto, direções de descida, que frequentemente não precisarão correção. A condição para esta propriedade é dada por um teorema.

Na formula BFGS, se B_k é simétrica definida positiva e $s_k^T y_k > 0$, então B_{k+1} também é simétrica e definida positiva.

Assim, $z \neq 0$, $z \in \mathbb{R}^n$. Então

$$z^T B_{k+1} z = z^T B_k z + \frac{(z^T y_k)^2}{y_k^T s_k} - \frac{(z^T B_k s_k)^2}{s_k^T B_k s_k} \quad (\text{eq. 2.21})$$

Em que $z^T B_k z > 0$ e $\frac{(z^T y_k)^2}{y_k^T s_k} \geq 0$, assim chamamos

$$a = z^T B_k z - \frac{(z^T B_k s_k)^2}{s_k^T B_k s_k} = \frac{s_k^T B_k s_k z^T B_k z - (z^T B_k s_k)^2}{s_k^T B_k s_k} \quad (\text{eq. 2.22})$$

Então, pela desigualdade de Cauchy-Schwarz, em que $a > 0$ quando z é múltiplo de s_k , $a = 0$. Neste caso $\frac{(z^T y_k)^2}{s_k^T y_k} > 0$. Logo $z^T B_{k+1} z > 0$ (MARTÍNEZ; SANTOS, 1998).

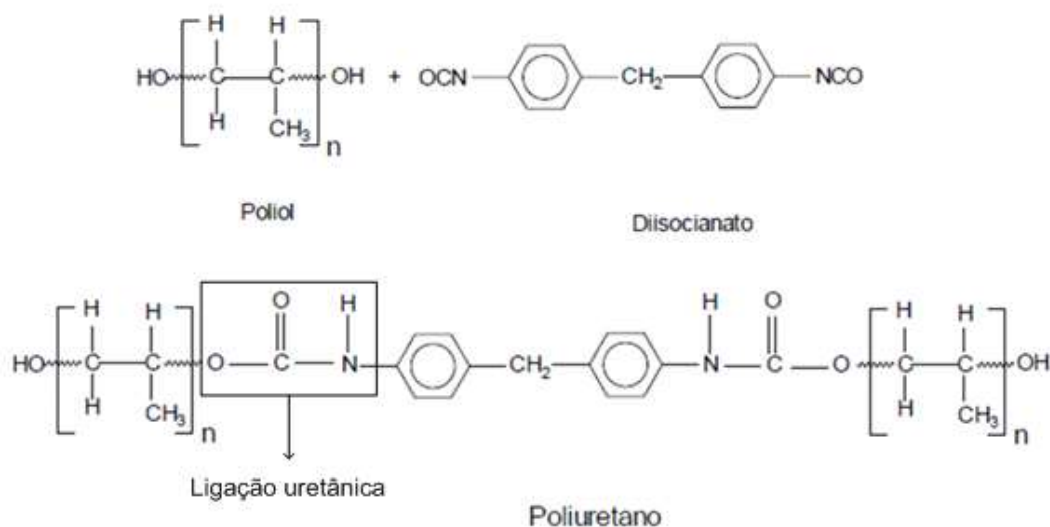
Com a resolução do sistema de equações, é possível obter um gráfico da concentração pelo tempo de reação. O mesmo gráfico foi plotado para os dados experimentais.

Como forma de avaliar o modelo, plota-se os valores dos dados experimentais das concentrações em função do tempo ($y^e(x)$) e os dados das concentrações obtidos a partir dos sistemas de equações ($y^m(x)$). Se o modelo for perfeito, $y^e(x) = y^m(x)$, as curvas geradas pelo modelo devem estar sobre os pontos dos dados experimentais, ou em uma região de confiança das predições do modelo.

3.4 OBTENÇÃO DO MODELO PARA O POLIURETANO

Os poliuretanos (PU) são usualmente sintetizados a partir da reação de um isocianato, di ou polifuncional e um póliol (GOMES, 2006). Que está representado na figura 22.

FIGURA 22 – REAÇÃO DA SÍNTESE DO POLIURETANO.

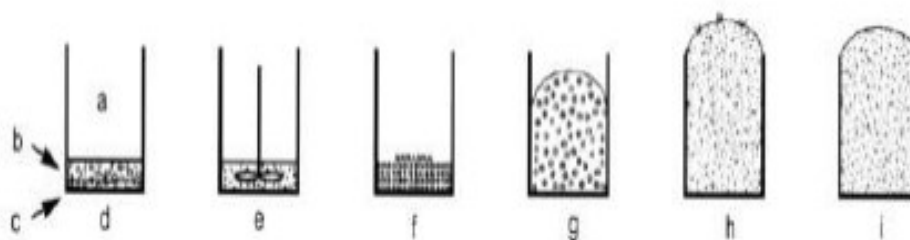


FONTE: GOMES (2006).

Segundo Vilar (2002) as diferentes características químicas e físicas dos poliuretanos são obtidas pela adição de outros compostos químicos que atuam como agentes de expansão, catalisadores, agentes de ligação cruzada, agentes de extensão de cadeia, surfactantes, aditivos, entre outros.

Na figura 23 está representada a etapa de formação do poliuretano. Essa etapa tem uma média de duração de um minuto.

FIGURA 23 – ETAPAS DA FORMAÇÃO DA ESPUMA CONVENCIONAL



FONTE: VILAR (2002)

Na figura 23, as letras: “a” representa o Ar; “b” representa o poliol, água e aditivos; “c” representa o isocianato; “d” representa a matérias-primas; “e” representa a mistura e nucleação; “f” representa o creme e Início do Crescimento; “g” representa o crescimento; “h” representa a separação de fase, suspiro e gelificação e “i” representa a cura.

A obtenção do modelo que descreve os dados experimentais para a expansão do poliuretano pode ser descrita por equações algébricas. Assim para o primeiro conjunto de dados a equação obtida descrita na equação 2.21.

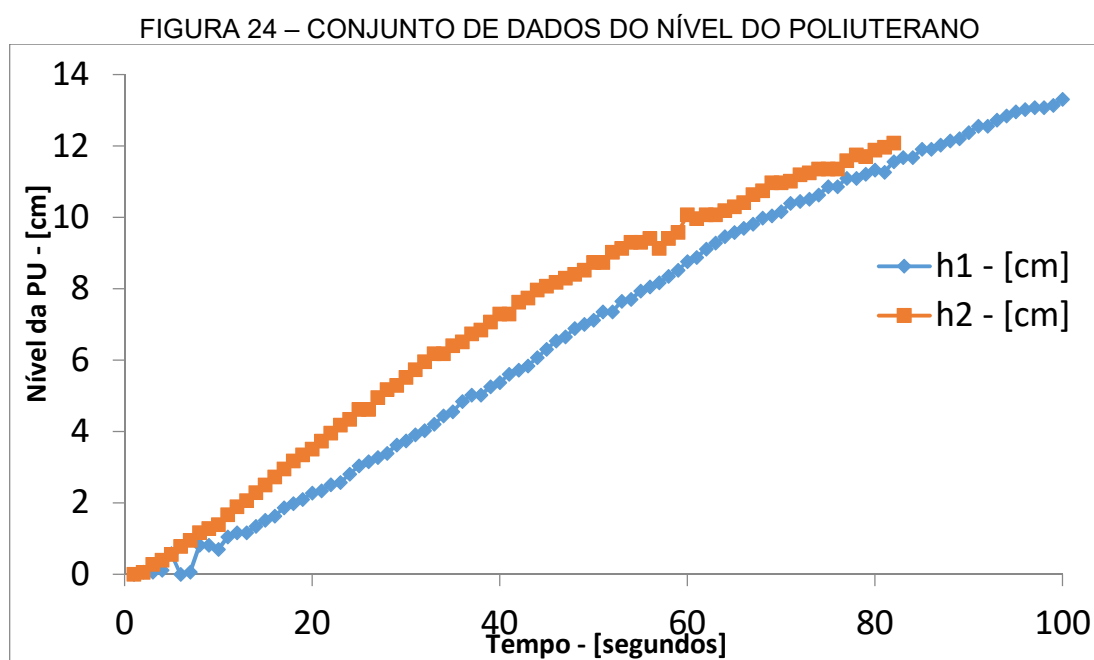
$$h = \alpha t + \beta \quad (\text{eq.2.21})$$

Na equação 2.22 está o conjunto de dados experimentais.

$$h = -\alpha t^2 + \beta t - \lambda \quad (\text{eq.2.22})$$

Em que h é a altura ou o nível, t é o tempo, α , β e λ são os parâmetros a serem estimados.

O gráfico do nível em função do tempo dos conjuntos dos dados experimentais está representado na figura 24.



FONTE: ALVES (2011).

Em que $h1$ é o primeiro conjunto de dados e $h2$ é o segundo conjunto. Na tabela 1 estão representadas a formulação das espumas de PU que geram os diferentes conjuntos de dados experimentais.

TABELA 1 – MASSA INICIAL DE CADA REGENTE PARA OS CONJUNTOS DE DADOS

| Reagentes | Conjunto de dados H1 | Conjunto de dados H2 |
|------------|----------------------|----------------------|
| Poliol | 11,921 gramas | 12,854 gramas |
| Isocianato | 24,147 gramas | 24,046 gramas |

FONTE: ALVES (2011).

3.5 REGIÃO DE CONFIANÇA PARAMÉTRICA

Para Schwaab e Pinto (2007), a expressão normalmente utilizada para determinar a região e o nível de confiança dos parâmetros passa pela aproximação quadrática da função objetivo, como escrito na equação 2.23.

$$F_{obj}(a) = F_{obj}(\hat{a}) + (a - \hat{a})^T \nabla F_{obj} + \frac{1}{2} (a - \hat{a})^T H_{\hat{a}} (a - \hat{a}) \quad (\text{eq. 2.23})$$

O sinal "Λ" indica o valor estimado, ou seja, o valor no qual a função objetivo atinge o valor mínimo. No ponto de mínimo o gradiente da função objetivo é nulo, assim, pode-se escrever a equação 2.24 a partir da equação 2.23.

$$F_{obj}(a) - F_{obj}(\hat{a}) = (a - \hat{a})^T V_a^{-1} (a - \hat{a}) \quad (\text{eq. 2.24})$$

Ao considerar um modelo linear, ou que pode ser linearizado nas proximidades do ponto mínimo, conclui-se que as incertezas paramétricas também seguem uma distribuição normal. Assim ambos os lados da equação 2.24 seguem a distribuição χ^2 com NP graus de liberdade. Utilizando-se o limite superior da distribuição χ^2 , é possível definir a região de confiança dos parâmetros que satisfazem a equação 2.25.

$$(a - \hat{a})^T V_a^{-1} (a - \hat{a}) \leq \chi_{NP}^{\alpha} \quad (\text{eq. 2.25})$$

Em que α indica o nível de confiança. Schwaab e Pinto (2007) relatam que na maioria das vezes, apenas uma aproximação da matriz de covariância dos desvios experimentais (V_y) está disponível. Assim, divide-se ambos os lados da equação 2.24

pela função objetivo, desse modo, observa-se como a soma de desvios quadrados de variáveis que seguem a distribuição normal. A função objetivo também tem distribuição χ^2 , mas com $NE.NY-NP=N-NP$ graus de liberdade. Essa razão segue uma distribuição F de Fisher. Usando o limite superior da distribuição F, pode-se determinar a equação 2.26.

$$(a - \hat{a})^T V_a^{-1} (a - \hat{a}) \leq F_{obj}(\hat{a}) \frac{NP}{N - NP} F_{NP, N-NP}^\alpha \quad (\text{eq. 2.26})$$

Na qual a razão entre NP e $NE.NY-NP=N-NP$ aparece para normalizar as duas distribuições que tem graus de liberdade diferentes.

Para Schwaab e Pinto (2007), algumas vezes pode-se levar as razões de confianças mal determinadas e que não representam acuradamente a realidade estatística do problema, devido a não linearidade dos modelos utilizados no dia-a-dia. Assim, é possível escrever a equação 2.27.

$$F_{obj}(a) - F_{obj}(\hat{a}) \leq F_{obj}(\hat{a}) \left(1 + \frac{NP}{N - NP} F_{NP, N-NP}^\alpha \right) \quad (\text{eq. 2.27})$$

Ainda segundo Schwaab e Pinto (2007), a região de confiança pode ser determinada genericamente como todos os conjuntos de parâmetros que levam a valores da função objetivo que satisfazem a equação 2.27, a qual considera a natureza não linear do problema de estimação de parâmetros.

3.6 ESTIMAÇÃO DE PARÂMETROS

O método do algoritmo genético concedeu a primeira estimação para os parâmetros. A partir dos dados obtidos por esse método foi possível obter o valor dos verdadeiros parâmetros, dos erros e a região de confiança para o método determinado.

Considerou-se dois métodos de estimação de parâmetros. O primeiro é referente ao estudo de Schwaab e Pinto (2007) e o Segundo método foi através dos estudos de Englezos e Kalogerakis (2000).

Através do método de mínimos quadrados é possível obter a função objetivo abaixo:

$$Fobj = \sum_{i=1}^{NE} (y_i^e - y_i^m)^2 \quad (\text{eq. 2.28})$$

Fobj é a função objetivo. NE é o número de experimentos, y^e representa os valores dos dados experimentais e y^m representa os valores da predição do modelo.

Segundo Schwaab & Pinto (2007) se o experimento é dito “bem feito” não há motivos para acreditar que o erro experimental é maior que o erro mínimo inevitável das incertezas dos experimentos. Assim uma variância pode ser assumida e dada por:

$$\sigma^2 = \frac{\sum_{i=1}^{NE} (y_i^e - y_i^m)^2}{NE - NP} \quad (\text{eq. 2.29})$$

Onde NP é o número de parâmetros a ser estimado.

Supondo então que as variáveis independentes não contém erros e que toda a flutuação experimental é devido ao erro de medições de variáveis dependentes y^e , consequentemente, se o erro flutuar em torno dos valores reais e tiverem uma média igual a zero, os parâmetros também flutuaram em torno dos valores verdadeiros, mostrando que o procedimento proposto para a estimação de parâmetros é consistente (SCHWAAB; PINTO 2007).

O vetor da função objetivo em relação aos parâmetros do modelo deve ser nulo (eq.2.20).

$$\nabla Fobj = \begin{bmatrix} \frac{\partial Fobj}{\partial \alpha_1} \\ \frac{\partial Fobj}{\partial \alpha_2} \\ \vdots \\ \frac{\partial Fobj}{\partial \alpha_{NP}} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ \vdots \\ 0 \end{bmatrix} \quad (\text{eq.2.30})$$

$$\nabla Fobj(y^e, x^e, \alpha) = 0$$

Assim a matriz de sensibilidade pode ser calculada utilizando as equações 2.31 e 2.32

$$G_Y = \left[\frac{\partial[\nabla Fobj(y^e, x^e, \alpha)]}{\partial y^e} \right] \begin{bmatrix} \frac{\partial^2 Fobj}{\partial \alpha_1 \partial y_{1,1}^e} & \frac{\partial^2 Fobj}{\partial \alpha_1 \partial y_{1,2}^e} & \dots & \frac{\partial^2 Fobj}{\partial \alpha_1 \partial y_{NE,NY}^e} \\ \frac{\partial^2 Fobj}{\partial \alpha_2 \partial y_{2,1}^e} & \frac{\partial^2 Fobj}{\partial \alpha_2 \partial y_{2,2}^e} & \dots & \frac{\partial^2 Fobj}{\partial \alpha_2 \partial y_{NE,NY}^e} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial^2 Fobj}{\partial \alpha_{NP} \partial y_{1,1}^e} & \frac{\partial^2 Fobj}{\partial \alpha_{NP} \partial y_{1,2}^e} & \dots & \frac{\partial^2 Fobj}{\partial \alpha_{NP} \partial y_{NE,NY}^e} \end{bmatrix} \quad (\text{eq.2.31})$$

$$H_\alpha = \left[\frac{\partial[\nabla Fobj(y^e, x^e, \alpha)]}{\partial \alpha^e} \right] \begin{bmatrix} \frac{\partial^2 Fobj}{\partial \alpha_1 \partial \alpha_1} & \frac{\partial^2 Fobj}{\partial \alpha_1 \partial \alpha_2} & \dots & \frac{\partial^2 Fobj}{\partial \alpha_1 \partial \alpha_{NP}} \\ \frac{\partial^2 Fobj}{\partial \alpha_2 \partial \alpha_1} & \frac{\partial^2 Fobj}{\partial \alpha_2 \partial \alpha_2} & \dots & \frac{\partial^2 Fobj}{\partial \alpha_2 \partial \alpha_{NP}} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial^2 Fobj}{\partial \alpha_{NP} \partial \alpha_1} & \frac{\partial^2 Fobj}{\partial \alpha_{NP} \partial \alpha_2} & \dots & \frac{\partial^2 Fobj}{\partial \alpha_{NP} \partial \alpha_{NP}} \end{bmatrix} \quad (\text{eq.2.32})$$

Em que H_α é a matriz hessiana. Se os dados experimentais obtidos são independentes e o erro de medição é constante e igual em todas as condições dos experimentos, então a matriz de erro pode ser escrita pela equação 2.33.

$$V_Y = \begin{bmatrix} \sigma_y^2 & 0 & \dots & 0 \\ 0 & \sigma_y^2 & \dots & 0 \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ 0 & 0 & \dots & \sigma_y^2 \end{bmatrix} = \sigma_y^2 I \quad (\text{eq.2.33})$$

Em que I é a matriz identidade e nesse caso a matriz de covariância pode ser escrita:

$$G_Y \varepsilon_y + H_\alpha \nabla \alpha = 0 \quad (\text{eq.2.34})$$

A equação 2.33 mostra que a incerteza dos parâmetros depende dos erros experimentais e das condições experimentais.

$$\begin{aligned}
 V_{\alpha} &= E\{\Delta\alpha\Delta\alpha^T\} = E\{(-H_{\alpha}^{-1}G_Y\varepsilon_y)(-H_{\alpha}^{-1}G_Y\varepsilon_y)^T\} \\
 V_{\alpha} &= H_{\alpha}^{-1}G_YV_YG_Y^TH_{\alpha}^{-1}
 \end{aligned}
 \tag{eq.2.35}$$

Onde $E\{\}$ é o valor esperado e ε é a incerteza experimental.

O erro padrão do parâmetro é obtido com a raiz quadrada do elemento diagonal correspondente da matriz V_{α} multiplicada por σ_{ε}^2 .

$$\hat{\sigma}_{ki} = \hat{\sigma}_{\varepsilon} \sqrt{\{V_{\alpha}\}_{ii}} \tag{eq.2.38}$$

Para um sistema de equações diferenciais em que não há solução analítica para o problema, pode-se utilizar o método estudado por Englezos & Kalogerakis (2000).

Assim o modelo deve estar de acordo com a equação 2.39.

$$\begin{aligned}
 \frac{dx(t)}{dt} &= f(x(t), u, k); x(t_0) = x_0 \\
 y(t) &= Cx(t) \\
 y(t) &= h(x(t), k)
 \end{aligned}
 \tag{eq.2.39}$$

Em que “k” é o vetor da estimação dos parâmetros, “x” é o vetor das variáveis de estado, “x₀” é o vetor das condições iniciais, assumindo que são conhecidas precisamente, “u” é o vetor das variáveis manipuladas, y é o vetor de saída, “f” é o vetor da função (equação diferencial), “h” é o vetor da função que está relacionado de uma forma não linear com o vetor de saída e o vetor de estado e “C” é a matriz de observação $m \times n$ que indica as variáveis de estado.

Nesse caso a função objetivo a ser minimizada é escrita na forma de:

$$Fobj = \sum_{i=1}^N [\hat{y}_i - y(t_i, k)] Q_i [\hat{y}_i - y(t_i, k)] \tag{eq.2.40}$$

Em que y_i indica a medição do vetor de saída em relação ao tempo (t_i). Que deve ser parecido com os valores calculados pelo modelo ao mesmo tempo, $y(t_i)$. Q_i ($i \approx 1, \dots, N$) é a matriz de ponderação.

Segundo Englezos & Kalogerakis (2000) a minimização da equação 2.40 pode ser realizada utilizando praticamente qualquer técnica disponível das teorias de otimização. Por este motivo o uso de algoritmos de convergência quadrática é altamente recomendado.

Considerando a expansão de Taylor

$$y(t_i, k^{(j+1)}) = y(t_i, k^{(j)}) + \left(\frac{\partial y^T}{\partial k} \right)_i \Delta k^{(j+1)} \quad (\text{eq.2.41})$$

Em que “ $k^{(j)}$ ” é uma estimativa dos parâmetros desconhecidos que está disponível na j^{th} interação. Assumindo uma relação linear entre o vetor de saída e o das variáveis de estado, a equação se torna:

$$y(t_i, k^{(j+1)}) = Cx(t_i, k^{(j)}) + C \left(\frac{\partial x^T}{\partial k} \right)_i \Delta k^{(j+1)} \quad (\text{eq.2.42})$$

Nesse caso a matriz de sensibilidade pode ser escrita como:

$$G(t_i) \equiv \left(\frac{\partial x^T}{\partial k} \right)_i^T \quad (\text{eq.2.43})$$

A matriz de sensibilidade $G(t)$ pode ser determinada como uma função do tempo resolvendo simultaneamente com a EDO's outros conjunto de equações.

$$\frac{dG(t)}{dt} = \left(\frac{\partial f^T}{\partial x} \right)^T G(t) + \left(\frac{\partial f^T}{\partial k} \right)^T \quad (\text{eq.2.44})$$

A condição inicial $G(t_0)$ é obtido pela diferença da condição inicial, $x(t_0)=x_0$, com relação a k e como o estado inicial é independente dos parâmetros, assim $G(t_0) = 0$. Se a dimensão do problema não for excessivamente alta a integração simultânea das equações de estado e sensibilidade a abordagem mais fácil para implementação é de Gauss-Newton sem a necessidade de armazenar $x(t)$ como uma função do tempo (ENGLEZOS; KALOGERAKIS, 2000).

$$G(t) \equiv \left(\frac{\partial x^T}{\partial k} \right)^T = \left[\left(\frac{\partial x}{\partial k_1}, \frac{\partial x}{\partial k_2}, \dots, \frac{\partial x}{\partial k_p} \right) \right] = [g_1, g_2, \dots, g_p] \quad (\text{eq.2.45})$$

Nesse caso o vetor g de dimensão n representa o coeficiente de sensibilidade das variáveis de estado em relação ao parâmetro k que satisfaz a EDO abaixo:

$$\begin{aligned} \frac{dg_{11}(t)}{dt} = & \left(\frac{\partial f_1}{\partial x_1} \right) g_{11}(t) + \left(\frac{\partial f_1}{\partial x_1} \right) g_{21}(t) + \left(\frac{\partial f_1}{\partial x_1} \right) g_{31}(t) + \left(\frac{\partial f_1}{\partial x_1} \right) g_{41}(t) + \\ & \left(\frac{\partial f_1}{\partial x_1} \right) g_{51}(t) + \left(\frac{\partial f_1}{\partial k_1} \right) \end{aligned} \quad (\text{eq.2.46})$$

$$\frac{dg_2(t)}{dt} = \left(\frac{\partial f^T}{\partial x} \right)^T g_2(t) + \left(\frac{\partial f}{\partial k_2} \right); g_2(t_0) = 0 \quad (\text{eq.2.46a})$$

$$\frac{dg_p(t)}{dt} = \left(\frac{\partial f^T}{\partial x} \right)^T g_p(t) + \left(\frac{\partial f}{\partial k_p} \right); g_p(t_0) = 0 \quad (\text{eq.2.46b})$$

A equação deve ficar na forma da equação 2.47, pois a maioria dos solucionadores de equações diferenciais requer.

$$\frac{dz}{dt} = \varphi(z); z(t_0) = z(0) \quad (\text{eq.2.47})$$

O vetor z de dimensão $n \times (p+1)$ é descrito abaixo:

$$z = \begin{bmatrix} x(t) \\ \left(\frac{\partial x}{\partial k_1} \right) \\ \left(\frac{\partial x}{\partial k_2} \right) \\ \vdots \\ \left(\frac{\partial x}{\partial k_p} \right) \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} x(t) \\ g_1(t) \\ g_2(t) \\ \vdots \\ g_p(t) \end{bmatrix} \quad (\text{eq.2.48})$$

E o correspondente vetor da função $\varphi(z)$ com dimensão $n \times (p+1)$

$$\varphi(z) = \begin{bmatrix} f(x,u,k) \\ \left(\frac{\partial f^T}{\partial x}\right)^T g_1(t) + \left(\frac{\partial f}{\partial k_1}\right) \\ \left(\frac{\partial f^T}{\partial x}\right)^T g_2(t) + \left(\frac{\partial f}{\partial k_2}\right) \\ \vdots \\ \left(\frac{\partial f^T}{\partial x}\right)^T g_p(t) + \left(\frac{\partial f}{\partial k_p}\right) \end{bmatrix} \quad (\text{eq.2.49})$$

A jacobiana pode ser descrita então como:

$$\varphi(z) = \left(\frac{\partial \varphi^T}{\partial z}\right)^T = \begin{bmatrix} \left(\frac{\partial f^T}{\partial x}\right)^T & 0 & 0 & \dots & 0 \\ * & \left(\frac{\partial f^T}{\partial x}\right)^T & 0 & \dots & 0 \\ * & 0 & \left(\frac{\partial f^T}{\partial x}\right)^T & \dots & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ * & 0 & 0 & \dots & \left(\frac{\partial f^T}{\partial x}\right)^T \end{bmatrix} \quad (\text{eq.2.50})$$

Em que “*” na primeira coluna representa os termos que possuem derivada de segunda ordem em função do x. Segundo Englezos & Kalogerakis (2000). Em quase todas as situações práticas esses termos podem ser negligenciados, portanto a jacobiana pode ser considerada uma matriz diagonal.

Em uma implementação a rotina da integração numérica é solicitada para fornecer $z(t)$ em cada ponto de amostragem t_j , $i=1,\dots,N$ e bem como $x(t)$ e $G(t_j)$ se tornam disponíveis para a computação de $y(t_j, k^{(i)})$ assim como adicionar os termos apropriados na matriz A:

$$A = \sum_{i=1}^N G^T(t_i) C^T Q_i C G(t_i) \quad (\text{eq.2.51})$$

As estimativas dos parâmetros são normalmente distribuídos parcialmente ($E(k^*)=k$), assim a matriz de covariância paramétrica pode ser escrita como:

$$COV(k^*) = \sigma_\varepsilon^2 [A^*]^{-1} \quad (\text{eq.2.50})$$

Em que σ_ε^2 é obtido pela equação 2.29. A^* é a matriz A avaliada em k^* . Nota-se que para matrizes de mínimos quadrados A é independente dos parâmetros, o que não é verdade para problemas de mínimos quadrados não lineares. O erro padrão dos parâmetros é obtido através da raiz quadrada da diagonal da inversa da matriz A multiplicado por σ_ε^2 .

$$\hat{\sigma}_{ki} = \hat{\sigma}_\varepsilon \sqrt{\{[A^*]^{-1}\}_{ii}} \quad (\text{eq.2.53})$$

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na seção 4.1 contém os resultados dos parâmetros, os erros e a predição dos modelos da esterificação e transesterificação para a produção do geranil cinamato.

Na seção 4.2 contém os resultados dos parâmetros, os erros e a predição dos modelos para o cálculo do nível do PU em função do tempo.

4.1 MODELO DA ESTERIFICAÇÃO E TRANSESTERIFICAÇÃO

Os dados experimentais para a esterificação se encontram na tabela 2.

TABELA 2 – DADOS EXPERIMENTAIS PARA A ESTERIFICAÇÃO

| Tempo (h) | Concentração Geraniol (nM) | Concentração Acido Cinâmicos (nM) |
|-----------|----------------------------|-----------------------------------|
| 0 | 0,1350 | 0,0650 |
| 1 | 0,0718 | 0,0019 |
| 2 | 0,0726 | 0,0026 |
| 3 | 0,0726 | 0,0026 |
| 4 | 0,0731 | 0,0031 |
| 5 | 0,0748 | 0,0048 |
| 6 | 0,0740 | 0,0041 |

FONTE: ZANETTI et al. (2016).

A concentração de enzima utilizada foi de 20% em massa (0,06 nM). A estimativa inicial para os parâmetros foram de 10 para todos os valores das constantes de velocidade. As condições iniciais utilizadas foram $G(0) = 0,135$, $Ac(0) = 0,065$, $Gc(0)=0$ e $w(0) = 0$. Para as equações 2.1 a 2.7. O sistema de equações foi utilizado para prever as concentrações dos reagentes (y^m). O valor da função objetivo obtida por ambos os métodos apresentados no item dos métodos foi de $1,26 \times 10^{-4}$.

Para a realização dos cálculos é necessário primeiramente calcular o valor da função objetivo e da covariância. Resolver o sistema e obter os valores dos parâmetros que minimiza a função objetivo e a matriz de covariância paramétrica. Assim se torna possível encontrar o valor do erro padrão dos parâmetros. As estimativas iniciais foram obtidas através da ferramenta de otimização algoritmo

genético. Com os valores dos erros dos parâmetros é possível prever uma região de confiança paramétrica para o modelo que representa os dados experimentais obtidos.

TABELA 3 – RESULTADOS ENCONTRADOS PARA O PRIMEIRO MÉTODO PARA A ESTERIFICAÇÃO

| Parâmetros | k ₁ | k ₂ | k ₃ | k ₄ | k ₅ |
|---------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Estimativa inicial | 610 | 466 | 674 | 533 | 441 |
| Valores encontrados | 978,53 | 176,00 | 722,34 | 741,94 | 781,94 |
| Erro padrão | 0,0053 | 0,0005 | 0,0007 | 0,0002 | 0,0002 |

FONTE: O autor (2017).

Os resultados encontrados para o método de Schwaab e Pinto (2007) se encontram na tabela 3.

Com o método de Englezos e Kalogerakis (2000) encontrou-se os valores dos erros dos parâmetros. Assim para esse método, não realizou-se a estimatórias dos parâmetros. Apenas foi encontrado o erro padrão. Os valores da função objetivo obtida foram os mesmos para o método anterior. Para resolver o sistema de equação 2.1 a 2.7, utilizou-se o método de Runge-Kutta. O sistema de equação deve ser resolvido simultaneamente com a equação 2.44.

TABELA 4 – RESULTADOS ENCONTRADOS PARA O SEGUNDO MÉTODO PARA A ESTERIFICAÇÃO

| Parâmetros | k ₁ | k ₂ | k ₃ | k ₄ | k ₅ |
|-------------|----------------|----------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Estimativa | 695,74 | 93,22 | $8,11 \times 10^3$ | $1,91 \times 10^4$ | $4,82 \times 10^3$ |
| Erro padrão | 0,0011 | 0,008625 | 0,0228 | 0,1144 | 0,0171 |

FONTE: O autor (2017).

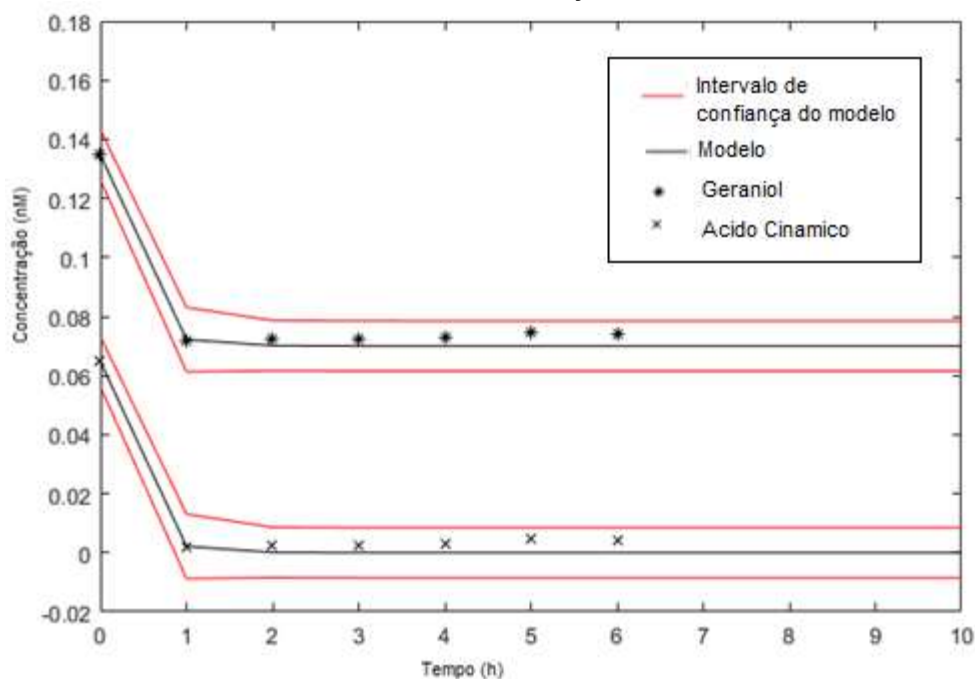
As constantes encontradas representam que direção a reação tende a acontecer com mais facilidade. Comparando assim as constantes, pode-se concluir que a reação direta é a que tem a maior facilidade de ocorrer. Na etapa da formação do complexo Gc.w.e é que a reação tende a ocorrer reversamente, dificultando a formação do produto final.

Os dados experimentais para a concentração foram plotados em um gráfico versus o tempo e comparados com o resultado obtido pelo modelo.

Na figura 25 é possível observar a região de confiança do modelo em relação aos parâmetros encontrados. O nível de confiança é de 95% e utilizou-se a distribuição

de t de student. Os parâmetros encontrados podem não ser a única resposta para esse modelo, pois a região de confiança encontrada possui uma larga faixa entorno dos dados experimentais. Essa observação pode ter ocorrido por falta de mais dados ou por erros experimentais.

FIGURA 25 – DADOS EXPERIMENTAIS DA ESTERIFICAÇÃO VERSUS PREDIÇÃO DO MODELO E O INTERVALO DE CONFIANÇA DOS PARÂMETROS



FONTE: O autor (2017).

Para a transesterificação utilizou-se os mesmos passos. O sistema de equação utilizado referente a transesterificação são as eq. 2.8 a 2.14. Os dados experimentais se encontram na tabela 5.

TABELA 5 – DADOS EXPERIMENTAIS PARA A TRANSESTERIFICAÇÃO

| Tempo (h) | Geraniol (nM) | Etil Cinamato (nM) |
|-----------|---------------|--------------------|
| 0 | 0,900 | 0,115 |
| 0,5 | 0,875 | 0,091 |
| 1 | 0,842 | 0,058 |
| 2 | 0,813 | 0,028 |
| 3 | 0,816 | 0,031 |
| 4 | 0,808 | 0,023 |
| 5 | 0,808 | 0,023 |
| 6 | 0,806 | 0,021 |

FONTE: ZANETTI et al. (2016).

A concentração de enzima utilizada foi de 15% em massa (0,015 nM). A estimativa inicial para os parâmetros foram de 1 para todos os valores das constantes de velocidade. As condições iniciais utilizadas foram $G(0) = 0,9$, $Et(0) = 0,115$, $Gc(0)=0$ e $Al(0) = 0$. Para as equações 2.8 a 2.14. O sistema de equações foi utilizado para prever as concentrações dos reagentes (y^m). O valor da função objetivo obtida por ambos os métodos apresentados no item dos métodos foi de $1,6 \times 10^{-3}$. As estimativas iniciais foram obtidas através da ferramenta de otimização algoritmo genético.

Na tabela a seguir segue os valores encontrados pelo primeiro método.

TABELA 6 – RESULTADOS ENCONTRADOS PARA O PRIMEIRO MÉTODO PARA A TRANSESTERIFICAÇÃO

| Parâmetros | k_1 | k_2 | k_3 | k_4 | k_5 |
|---------------------|--------|---------|--------|--------|---------|
| Estimativa inicial | 15 | 1,1 | 11,1 | 0,5 | 2 |
| Valores encontrados | 890,67 | 3817,70 | 70,03 | 401,94 | 1640,68 |
| Erro padrão | 0,0038 | 0,2970 | 0,0047 | 0,0037 | 0,0939 |

FONTE: O autor (2017).

Como esperado, os valores da função objetivo obtida foram os mesmos para o método anterior. Para resolver o sistema de equação 2.8 a 2.14, utilizou-se o método de Runge-Kutta. O sistema de equação deve ser resolvido simultaneamente com a equação 2.44.

TABELA 7 – RESULTADOS ENCONTRADOS PARA O SEGUNDO MÉTODO PARA A TRANSESTERIFICAÇÃO

| Parâmetros | k_1 | k_2 | k_3 | k_4 | k_5 |
|-------------|--------|---------|--------|--------|---------|
| Estimativa | 890,67 | 3817,70 | 70,03 | 401,94 | 1640,68 |
| Erro padrão | 0,0038 | 0,2970 | 0,0047 | 0,0037 | 0,0939 |

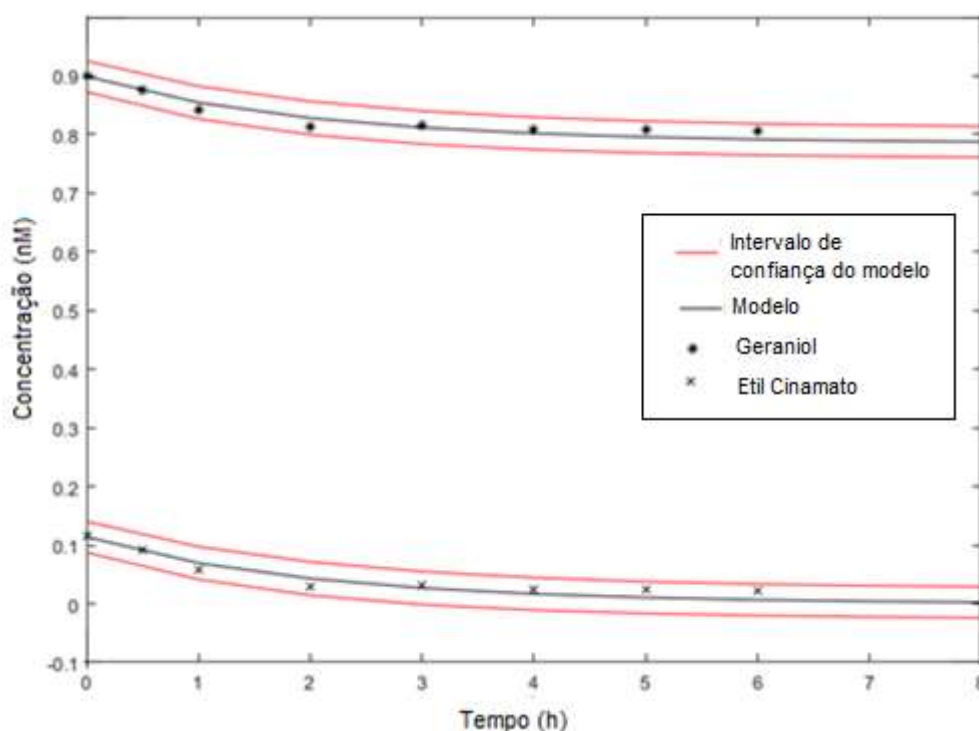
FONTE: O autor (2017).

Comparando as constantes, pode-se concluir que a reação inversa é a que tem a menor facilidade de ocorrer. Apenas na etapa da formação dos produtos que a reação tende a ocorrer diretamente.

Os dados experimentais para a concentração foram plotados em um gráfico versus o tempo (figura 26) e comparados com o resultado obtido pelo modelo.

Na transesterificação o modelo se adequou melhor que na esterificação. Esses dados podem ter ocorrido pelo fato dos dados experimentais não possuírem erros significativos.

FIGURA 26 – DADOS EXPERIMENTAIS DA TRANSESTERIFICAÇÃO VERSUS PREDIÇÃO DO MODELO E O INTERVALO DE CONFIANÇA DOS PARÂMETROS



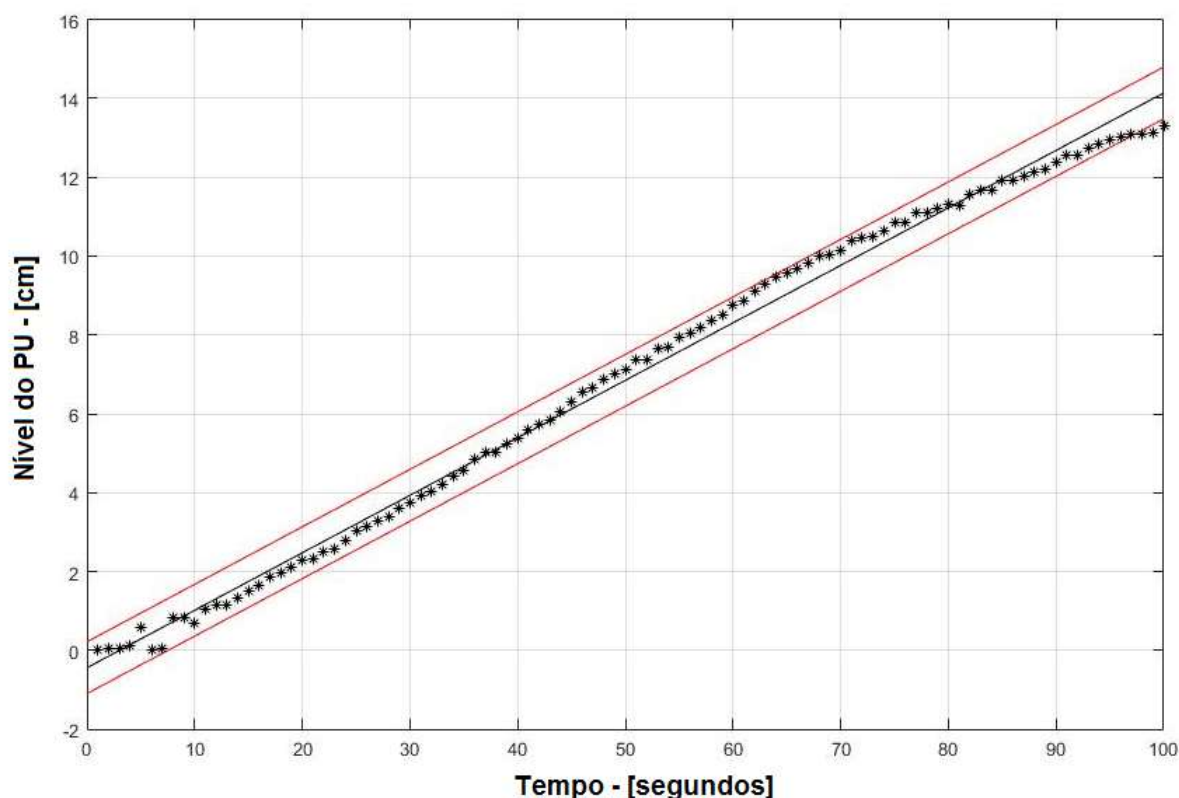
FONTE: O autor (2017).

4.2 MODELOS DO NÍVEL DO POLIURETANO

As massas iniciais de cada monômero estão indicadas na tabela 2. Com a análise de imagem foi possível obter a figura 27. Na figura 27 observa-se a predição do modelo e os dados experimentais do primeiro conjunto de dados (h1). O modelo que é descrito pela equação 2.21

Assim é possível observar a região de confiança do modelo em relação aos parâmetros encontrados. O nível de confiança é de 95% e utilizou-se a distribuição t de student.

FIGURA 27 – DADOS EXPERIMENTAIS DO NÍVEL DO PU VERSUS PREDIÇÃO DO MODELO E O INTERVALO DE CONFIANÇA DOS PARÂMETROS



FONTE: O autor (2017).

Na tabela 8 estão representados os resultados encontrados para os parâmetros do modelo proposto.

TABELA 8 – RESULTADOS ENCONTRADOS PARA O CONJUNTO DE DADOS H1

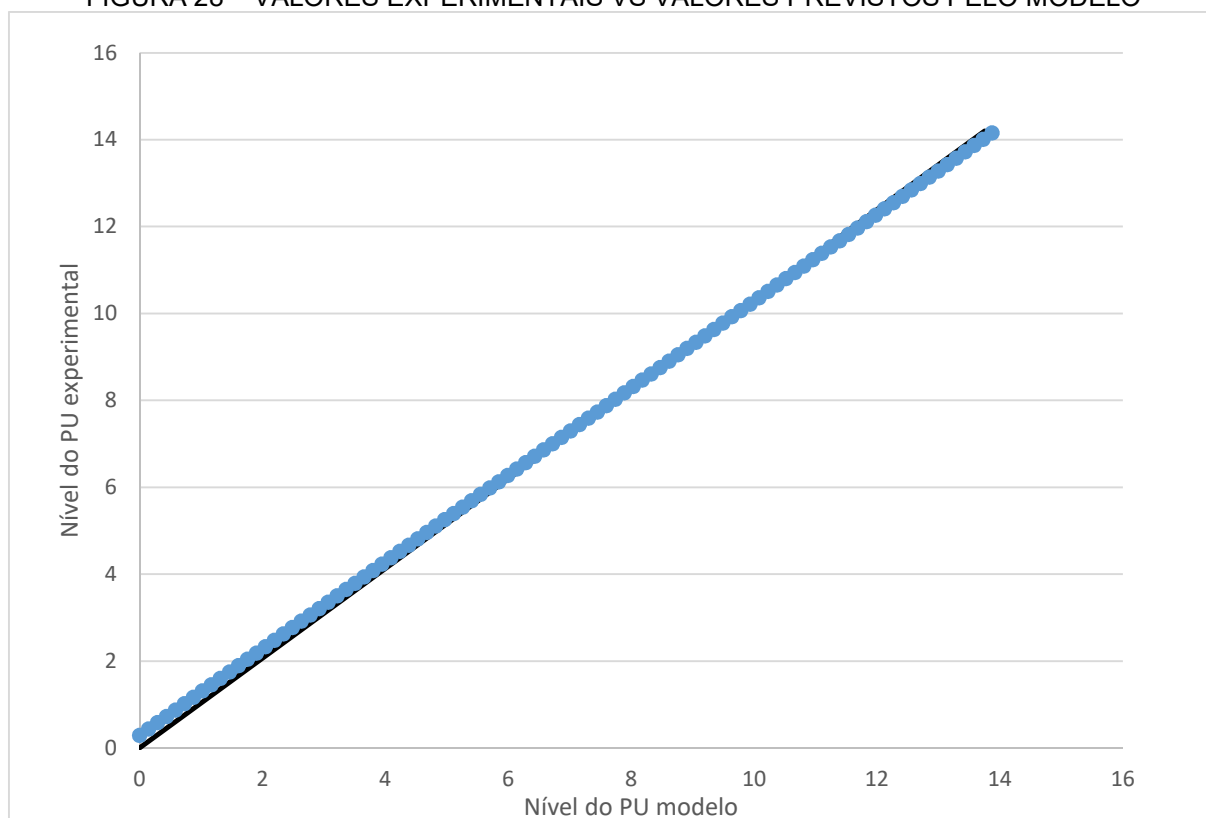
| Parâmetros | α | β |
|---------------------|--------------------|---------|
| Estimativa inicial | 1 | 1 |
| Valores encontrados | 0,1413 | 0,436 |
| Erro padrão | 9×10^{-9} | 0,013 |

FONTE: O autor (2017).

Para os modelos do PU, como se tratam de equações algébricas, não foram feitas estimações pelo método do algoritmo genético. O valor da função objetivo encontrada para esse modelo foi de 10,53. O nível de confiança utilizado para calcular a região de confiança para esses parâmetros é de 95% e utilizou-se a distribuição t de student.

A figura 28 contém a dispersão dos dados experimentais em relação ao modelo.

FIGURA 28 – VALORES EXPERIMENTAIS VS VALORES PREVISTOS PELO MODELO



FONTE: O autor (2017).

Os valores previstos pelo modelo se aproximam dos valores experimentais, isso se deve pela ótima capacidade do modelo em descrever corretamente os dados. Outra forma de analisar o modelo é observando o erro padrão que possui valores muito baixos.

Na tabela a seguir são representados os dados do desvio padrão, da média e dos limites superiores e inferiores.

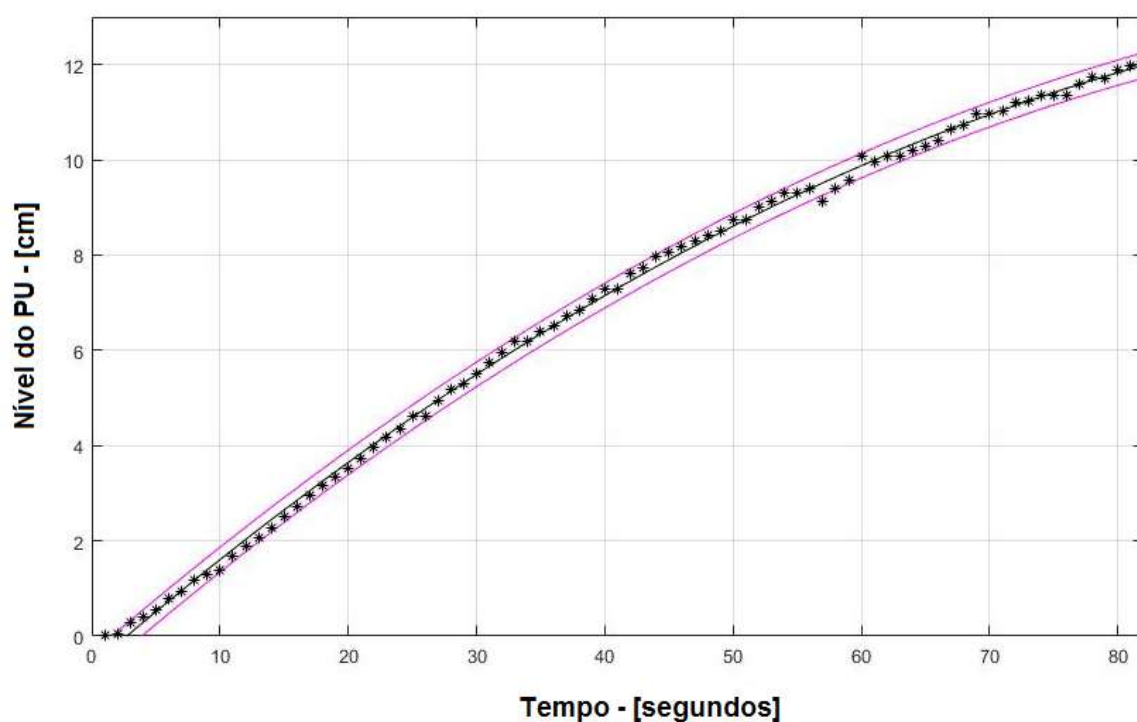
TABELA 9 – VALORES DOS LIMITES SUPERIOR E INFERIOR DOS DADOS EXPERIMENTAIS H1

| | |
|---------------|----------|
| Média | -0,01443 |
| Desvio padrão | 0,108718 |
| Lsuperior | 0,007199 |
| Linferior | -0,03606 |

FONTE: O autor (2017).

Na figura 29 observa-se a predição do modelo e os dados experimentais do segundo conjunto de dados (h2). O modelo que é descrito pela equação 2.22

FIGURA 29 – DADOS EXPERIMENTAIS DO NÍVEL DO PU VERSUS PREDIÇÃO DO MODELO E O INTERVALO DE CONFIANÇA DOS PARÂMETROS



FONTE: O autor (2017).

Na figura 26 é possível observar a região de confiança do modelo em relação aos parâmetros encontrados. O nível de confiança é de 95% e utilizou-se a distribuição t de student.

TABELA 10 – RESULTADOS ENCONTRADOS PARA O CONJUNTO DE DADOS H2

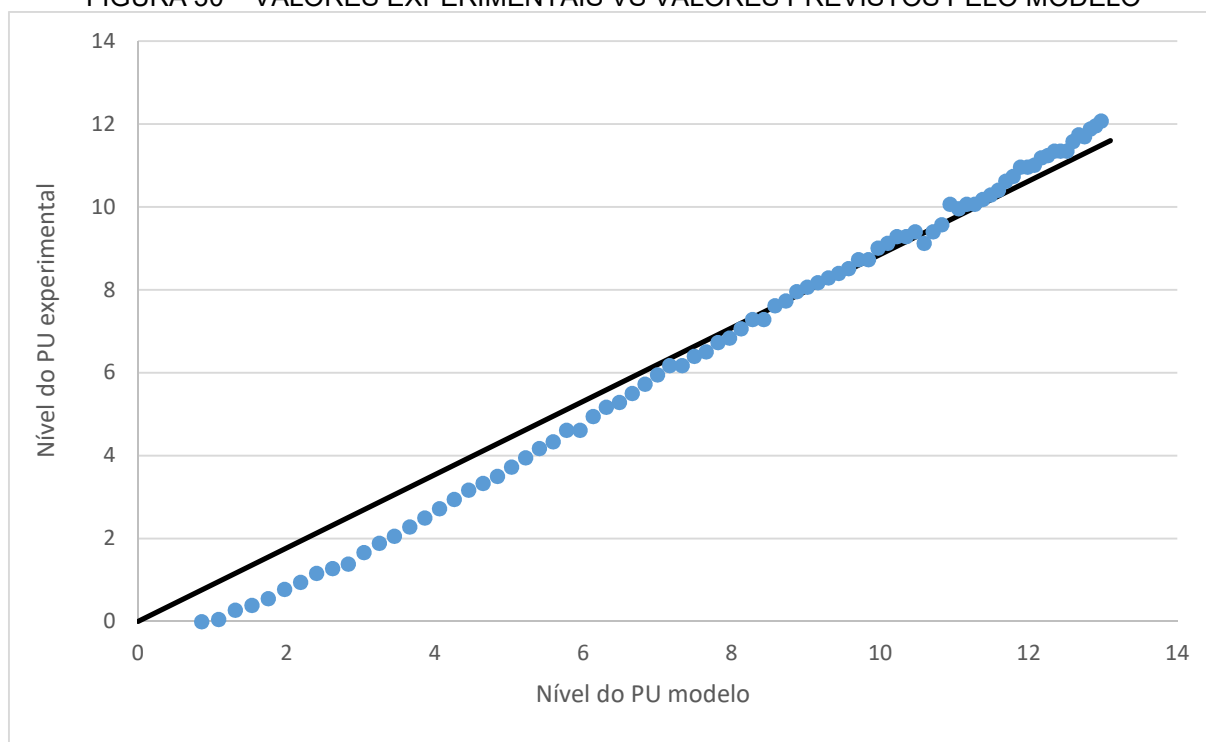
| Parâmetros | α | β | λ |
|---------------------|-----------------------|--------------------|--------------------|
| Estimativa inicial | 1 | 1 | 1 |
| Valores encontrados | $9,69 \times 10^{-4}$ | 0,233 | 0,631 |
| Erro padrão | 5×10^{-6} | 3×10^{-5} | 7×10^{-4} |

FONTE: O autor (2017).

Para os modelos do PU, como se tratam de equações algébricas, não foram feitas estimações pelo método do algoritmo genético. O valor da função objetivo encontrada para esse modelo foi de 1,29. O nível de confiança utilizado para calcular a região de confiança para esses parâmetros é de 95% e utilizou-se a distribuição t de student.

A figura 30 contém a dispersão dos dados experimentais em relação ao modelo.

FIGURA 30 – VALORES EXPERIMENTAIS VS VALORES PREVISTOS PELO MODELO



FONTE: O autor (2017).

Os valores previstos pelo modelo se aproximam dos valores experimentais, porém não precisos como o da figura 28. Isso ocorre porque o erro dos parâmetros do modelo anterior foi menor. Porém o modelo anterior é uma equação algébrica mais simples que os modelos dos dados experimentais h2 e o modelo h1 possui mais pontos experimentais.

Na tabela a seguir são representados os dados do desvio padrão, da média e dos limites superiores e inferiores.

TABELA 11 – VALORES DOS LIMITES SUPERIOR E INFERIOR DOS DADOS EXPERIMENTAIS
H2

| | |
|---------------|----------|
| Média | -1,12466 |
| Desvio padrão | 1,302597 |
| Lsuperior | -0,83845 |
| Linferior | -1,41088 |

FONTE: O autor (2017).

Na figura 27 e 29 encontram-se alguns pontos experimentais fora da linha da região de confiança do modelo em relação aos parâmetros. Os pontos fora da região podem ocorrer por erros experimentais ou de medição.

5 CONCLUSÃO

A disponibilidade de dados experimentais adequados é fundamental para que o modelo proposto possa descrever de forma a minimizar o erro desses dados. Os modelos propostos para a esterificação e transesterificação para a produção do geranil cinamato, basearam-se na literatura e nos modelos já existentes como: random bi bi, ordered bi bi e ping pong bi bi.

Na formulação dos modelos parâmetros desconhecidos foram utilizados nos sistemas de equação. Esses parâmetros são conhecidos como constante de velocidade da reação. Para que o modelo descrevesse adequadamente os dados experimentais foi-se necessário estima-los.

Os parâmetros encontrados através da ferramenta de otimização algoritmo genético, possibilitou a estimativa inicial que resultou nos parâmetros ótimos que descrevem os modelos e os erros. Esses parâmetros encontrados foram considerados satisfatórios e a validação do modelo através dos erros é considerada consistente, pois os dois métodos estudados para encontrar os erros, resultaram em um mesmo valor.

Com a validação do modelo possibilitou-se a construção de gráficos que determinam a região de confiança dos parâmetros em relação aos modelos propostos que descrevem os dados experimentais. Assim, o modelo pode ser utilizado para determinar a concentração ótima dos substratos e dos produtos.

Para os pontos experimentais da expansão do poliuretano foram propostos dois modelos de equação algébrica. Os dois modelos descreveram adequadamente os dados experimentais. Como as equações que descrevem o modelo para esses dados eram simples, foram feitos apenas a validação dos parâmetros encontrados por um dos métodos estudados.

Vale ressaltar a importância dos dados experimentais e a quantidade de pontos a serem extraídos de cada experimento. Comparando a quantidade de dados obtidos tanto pela esterificação como para a transesterificação com os dados da expansão do poliuretano ficou evidente nos resultados que quanto maior a quantidade de pontos adquiridos nos experimentos melhor o modelo responderá, diminuindo a região de confiança do modelo e o erro padrão dos parâmetros encontrado.

REFERÊNCIAS

- ADEWALE, P.; DUMONT, M.-J.; NGADI, M. Enzyme-catalyzed synthesis and kinetics of ultrasonic-assisted biodiesel production from waste tallow. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 27, p. 1-9, Nov. 2015.
- ALVES, E. T. S. **Aplicação de técnicas de análise de imagem para sistemas de Engenharia Química**. 90 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.
- ALVES, E. T. S. et al. Monitoramento da expansão de poliuretanas por técnicas de análise de imagem. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA – COBEQ, 20., 2014, Florianópolis. **Anais...** Blucher Chemical Engineering Proceedings, São Paulo, v. 1, n. 2, p. 11535-11542, 2015.
- AL-ZUHAIR, S.; DOWAIDAR, A.; KAMAL, H. Dynamic modeling of biodiesel production from simulated waste cooking oil using immobilized lipase. **Biochemical Engineering Journal**, v. 44, n. 2-3, p. 256–262, May. 2009.
- AL-ZUHAIR, S.; LING, F. W.; JUN, L. S. Proposed kinetic mechanism of the production of biodiesel from palm oil using lipase. **Process Biochemistry**, v. 42, p. 951–960, June 2007.
- BALLAND L. et al. A genetic algorithm with decimal coding for the estimation of kinetic and energetic parameters. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 50, p. 121-135, Jan. 2000.
- CHAPRA, S. C.; CANALE, R. P. **Numerical Methods for Engineers**. 6th ed. New York: McGraw-Hill, 2010.
- CLELAND, W. W. Biochim. Biophys. **Acta**, v. 67, p. 104, 1963.
- CUNHA, M. C. **Métodos numéricos**. 5. reimpr. Campinas: Editora da Unicamp, 2015.
- DAVIS, M. E. **Numerical Methods and Modeling for Chemical Engineers**. Pasadena: John Wiley and Sons, 1984.
- FOGLER, H. S. **Elementos de engenharia das reações químicas**. São Paulo: LTC, 2009.
- GOLDBERG E, D. **Genetic Algorithms in Search, Optimization and Machine Learning**. Boston: Addison-Wesley Longman Publishing Co, 1989.
- GOMES, A. S. Preparação e caracterização de organobentonita modificada com ionenos alifáticos. **Polímeros: ciências e tecnologia**, São Carlos, v. 15, n. 3, p. 212-217, jul./set. 2005.

GONZAGA, C. C. **Um curso de programação não linear**. Florianópolis: UFSC, 2004.

HIMMELBLAU, D. M. **Engenharia Química: princípios e cálculos**. Rio de Janeiro: Prendice/Hall do Brasil, 1984.

ITABAIANA JÚNIOR, I. et al. Kinetics and mechanism of lipase catalyzed monoacylglycerols synthesis. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 96, p. 34-39, Dec. 2013.

KHAN, N. R.; JADHAV, S. V.; RATHOD, V. K. Lipase catalysed synthesis of cetyl oleate using ultrasound: Optimisation and kinetic studies. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 27, p. 522-529, Nov. 2015.

KROUMOV, A. D.; MÓDENES, A. N.; WENZEL, B. M. Desenvolvimento de um modelo da cinética enzimática da transesterificação de óleos vegetais para produção de biodiesel. **Acta Scientiarum Technology**, Maringá, v. 29, n. 1, p. 9-16, 2007.

LAGE, P. L. C.; PINTO, J. C. C. S. **Métodos numéricos em problemas de Engenharia Química**. Rio de Janeiro: E-papers, 2001.

LAUTENBERGER, C.; REIN, G.; FERNANDEZ-PELLO, C. The application of a genetic algorithm to estimate material properties for fire modeling from bench-scale fire test data. **Fire Safety Journal**, v. 41, n. 3, p. 204-214, Apr. 2006.

MAHAN, B. H.; MYERS, R. J. **Química: um curso universitário**. São Paulo: Ed. Edgard Blucher Ltda., 1995.

MANO, B. E.; MENDES, C. L. **Introdução a polímeros**. 2.ed. São Paulo: Ed. Edgard Blucher Ltda., 1999.

MARTÍNEZ, M. J.; SANTOS, A. S. **Métodos computacionais de otimização**. Campinas: IMECC-Unicamp, 1995.

MARTY, A.; COMBES, D.; CONDORET, J. Continuous reaction-separation process for enzymatic esterification in supercritical carbon dioxide. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 43, n. 6, p. 497-504, Mar. 1994.

PINTO, G. F.; MENEZES, R. R. **Cinética enzimática**. Rio de Janeiro: E-papers Serviços Editoriais Ltda, 2009.

RIZZI, M. et al. A kinetic study of immobilized lipase catalysing the synthesis of isoamyl acetate by transesterification in n-hexane. **Enzyme Microb Technol.**, v. 14, n. 9, p. 709-714, Sept. 1992.

ROBERTS, D. V. **Enzyme Kinetics**. London: Cambrigid University Press.,1977.

SCHWAAB, M.; PINTO, J. C. **Análise de dados experimentais I: fundamentos de estatística e estimação de parâmetros**. Rio de Janeiro: E-papers, 2007.

SEGEL, I. H. **Enzyme Kinetics**. New York: John Wiley & Sons Inc., 1975.

SHINDE, S. D.; YADAV, G. D. Insight into Microwave-Assisted Lipase Catalyzed Synthesis of Geranyl Cinnamate: Optimization and Kinetic Modeling. **Biochem Biotechnol**, v. 175, n. 4, p. 2035–2049, Feb. 2014.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B. **Química Orgânica**. 9 ed. São Paulo: LTC, 2009. vol. 1 e 2.

VARMA, M. N.; PARAG, A. D.; MADRAS, G. Synthesis of biodiesel in supercritical alcohols and supercritical carbon dioxide. **Fuel**, v. 89, n. 7, p. 1641–1646, July 2010.

VILAR, W. **Química e tecnologia dos poliuretanos**. 3. ed. Rio de Janeiro: Vilar Consultoria, 2002.

VISHAKHA, V. K. et al. Synthesis of isobutyl propionate using immobilized lipase in a solvent free system: Optimization and kinetic studies. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 99, p. 143-149, Jan. 2013.

YADAV, G. D.; MORESHWAR, P. H.; TALPADE, A. D. Microwave assisted process intensification of lipase catalyzed transesterification of 1,2 propanediol with dimethyl carbonate for the green synthesis of propylene carbonate: Novelty of kinetics and mechanism of consecutive reactions. **Chemical Engineering Journal**, v. 281, p. 199-208, Dec. 2015.

ZANETTI, M. (2016). Synthesis of geranyl cinnamate by lipase-catalyzed reaction and its evaluation as an antimicrobial agent. **Chemical Technology and Biotechnology**, v. 92, n. 1, p. 115–121, 2016.